

Kategorie CLIA: OSVOBOZENO*

* Pouze pro USA

Pro použití se vzorky výtěru z krku.

K provádění tohoto testu v prostředí osvobozeném od požadavků CLIA je vyžadován certifikát o osvobození. Chcete-li získat informace o osvobození od požadavků CLIA a certifikát o osvobození, kontaktujte svůj státní zdravotní úřad. Další informace o osvobození od požadavků CLIA jsou k dispozici na webových stránkách Centra pro medicínu a lékařskou péči (Centers for Medicare and Medicaid) na adrese www.cms.hhs.gov/CLIA.

Nedodržení pokynů nebo úprava pokynů k testovacímu systému bude mít za následek, že test přestane splňovat požadavky pro osvobození.



Před použitím testu **cobas® Strep A** by si obsluha měla pečlivě přečíst celý tento příbalový leták. Dodržujte všechny pokyny, abyste zajistili správné výsledky testu.

POZN.: ve zbývajících částech této příbalové informace může být analyzátor **cobas® Liat®** označován jako analyzátor a systém **cobas® Liat®** jako systém.

I. Účel použití

Test nukleových kyselin **cobas® Strep A** pro použití se systémem **cobas® Liat®** (**cobas® Strep A**) je kvalitativní diagnostický test *in vitro* pro detekci *Streptococcus pyogenes* (β-hemolytický *Streptococcus* skupiny A, Strep A) ve vzorcích výtěru z krku od pacientů s příznaky faryngitidy.

Test **cobas® Strep A** využívá purifikaci nukleových kyselin a technologii polymerázové řetězové reakce (*Polymerase Chain Reaction*, PCR) k detekci *Streptococcus pyogenes* cílením na segment genomu *Streptococcus pyogenes*.

II. Souhrn a princip

Strep A způsobuje celou řadu lidských infekcí, včetně faryngitidy, sinusitidy, lymfadenitidy, pyodermie, endokarditidy, meningitidy, septikemie, tonzilitidy, impetiga a infekcí horních cest dýchacích. Přesná diagnóza patogenu je nezbytná pro správnou léčbu onemocnění vhodnými antibiotiky. Neléčené infekce vyvolané Strep A mohou vést k závažným, někdy i život ohrožujícím stavům, jako je revmatická horečka, spála, peritonzilární absces, glomerulonefritida, nekrotizující fasciitida a syndrom streptokokového toxického šoku.

Konvenční metody detekce Strep A zahrnují 24–48hodinovou kultivaci vzorků výtěru z krku a následnou identifikaci pomocí fyziologických, biochemických nebo imunologických vlastností. Rychlejší výsledky lze získat pomocí rychlých testů detekce antigenů (RADT), avšak tyto testy mají obecně nižší citlivost. Uváděná citlivost testů RADT se značně liší a přehled téměř 100 studií uvádí průměrnou citlivost 86 % a specifitu 95 %.¹ Test **cobas® Strep A** je rychlý a snadno použitelný molekulární test, který poskytuje vyšší citlivost než RADT, čímž eliminuje potřebu konfirmačního kultivačního testování u dospělých i dětí.

III. Princip testu

Test **cobas® Strep A** je automatizovaný diagnostický test *in vitro* pro kvalitativní detekci DNA Strep A ve výtěrech z krku. Doba od odběru vzorku do získání výsledku je cca 15 minut.

Test se provádí na systému **cobas® Liat®**. Systém automatizuje a integruje purifikaci vzorku, amplifikaci nukleové kyseliny a detekci cílové sekvence v biologických vzorcích pomocí PCR v reálném čase. Test cílí na konzervativní část genomu Strep A. Součástí je také vnitřní kontrola zpracování (*Internal Process Control*, IPC). IPC slouží ke kontrole adekvátního zpracování cílové bakterie ve všech krocích procesu testu a k monitorování přítomnosti inhibitorů při přípravě vzorku a PCR.

Analýzátor **cobas® Liat®** sestává ze zařízení s integrovaným softwarem pro provádění testů a analýzu výsledků. Systém sestává z analyzátoru a jednorázové testovací zkumavky **cobas® Strep A**, která obsahuje reagentie pro purifikaci nukleových kyselin a PCR a v níž probíhá příprava vzorku a proces PCR. Kromě přidání vzorku do testovací zkumavky **cobas® Strep A** není zapotřebí připravovat žádné reagentie ani provádět žádné další kroky. Protože je každá testovací zkumavka **cobas® Strep A** samostatná, snižuje se riziko křížové kontaminace vzorků.

IV. Reagentie a zařízení

A. Dodávané materiály



Balení testovacích zkumavek **cobas® Strep A** (kat. č. 07341911190) obsahuje dostatečné množství reagentií pro zpracování 20 vzorků nebo vzorků pro kontrolu kvality. Balení obsahuje 20 sad testovacích zkumavek **cobas® Strep A** a přenosových pipet. Součástí balení je také karta s čárovým kódem na příbalovém letáku (kat. č. 07997060001) s čárovým kódem specifickým pro danou šarži.

B. Vybavení

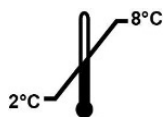
Analýzátor **cobas® Liat®** kat. č. 07341920190

C. Dostupné materiály, jež nejsou součástí dodávky

- Odběrové soupravy s tampóny a kapalným médiem Amies, přičemž každá souprava obsahuje:
Kapalně médium Amies, 1 ml
Odběrový tampón

Mezi přijatelné odběrové soupravy patří odběrová souprava Copan ESwab™ Collection Kit, odběrový a transportní systém Becton Dickinson Liquid Amies Elution Swab (ESwab) Collection and Transport System (BD kat. č. 220245, Copan kat. č. 480C). Některé produkty nemusí být dostupné ve všech zemích

- **CONTROL** Souprava pro kontrolu kvality **cobas® Strep A** Quality Control Kit, kat. č. 07402678190, obsahující:
Pozitivní kontrolu **cobas® Strep A** Positive Control (pozitivní kontrola), kat. č. 07758502001
cobas® Strep A Dilution Amies (ředění média Dilution Amies), kat. č. 07763808001
Přenosovou pipetu, kat. č. 07898541001
Kartu kontrolní soupravy s čárovým kódem, kat. č. 07945272001
Štítek s čárovým kódem negativní kontroly, kat. č. 07945264001
Štítek s čárovým kódem pozitivní kontroly, kat. č. 07945256001

V. Skladování a manipulace

- Testovací zkumavku **cobas® Strep A** a kontrolu kvality **cobas® Strep A** skladujte při teplotě 2–8 °C.
- Nepoužívejte soupravy ani reagenty po uplynutí data expirace.
- Obaly jednotlivých testovacích zkumavek neotvírejte, dokud nebudete připraveni provést testování.

VI. Upozornění a bezpečnostní pokyny

- Se všemi biologickými vzorky, včetně použitých testovacích zkumavek **cobas® Strep A** a pipet, je třeba zacházet tak, jako by mohly přenášet infekční agens. Jelikož často není možné zjistit, které vzorky mohou být infekční, mělo by se se všemi biologickými vzorky nakládat za dodržení všeobecných bezpečnostních opatření. Pokyny pro manipulaci se vzorky jsou k dispozici u Středisek pro kontrolu a prevenci nemocí USA (U.S. Centers for Disease Control and Prevention) a Institutu klinických a laboratorních standardů (Clinical and Laboratory Standards Institute).
- Dodržujte bezpečnostní postupy vaší instituce pro práci s chemikáliemi a manipulaci s biologickými vzorky.
- Nepoužívejte poškozené testovací zkumavky **cobas® Strep A**. Nepoužívejte testovací zkumavku **cobas® Strep A**, která někomu po vyjmutí z fóliového sáčku upadla.
- Obaly jednotlivých testovacích zkumavek neotvírejte, dokud nebudete připraveni provést testování.



- Každá jednorázová testovací zkumavka **cobas® Strep A** slouží ke zpracování jednoho testu. Použité testovací zkumavky **cobas® Strep A** nepoužívejte opakovaně. Pokud není testovací zkumavka **cobas® Strep A** umístěna v pouzdře nebo pokud přihrádka na vzorek v testovací zkumavce již obsahuje kapalinu, znamená to, že tato zkumavka byla již použita. Takové testovací zkumavky NEPOUŽÍVEJTE.
- Neprotrhněte testovací zkumavku **cobas® Strep A** ani těsnění na dně přihrádky na vzorek. Pokud je něco z toho při přidávání vzorku poškozeno, vyhodte testovací zkumavku **cobas® Strep A** i přenosovou pipetu a test zopakujte s novou přenosovou pipetou a testovací zkumavkou **cobas®**.
- Neotevírejte uzávěr testovací zkumavky **cobas® Strep A** během nebo po provedení testu na analyzátoru.
- Použité testovací zkumavky **cobas® Strep A**, pipety a zkumavky se vzorky zlikvidujte v souladu s bezpečnostními pokyny vaší instituce pro nebezpečný materiál.
- Pozor: podle federálního zákona smí být tento prostředek prodáván pouze lékařem nebo na jeho objednávku.
- Vzhledem k vysoké citlivosti testů prováděných na analyzátoru může kontaminace pracovní plochy předchozími pozitivními vzorky vést k falešně pozitivním výsledkům. Se vzorky manipulujte v souladu se standardními laboratorními postupy. Zařízení i okolní povrchy čistěte podle pokynů uvedených v části o čištění v uživatelské příručce k zařízení pomocí 5–10% roztoku bělidla a následně isopropanolem.

- Odběr vzorků by měl provádět speciálně vyškolený personál za použití doporučených tampónů. Neadekvátní nebo nevhodný odběr, skladování a transport vzorku může vést k falešným výsledkům testu.
- Používejte pouze přenosové pipety obsažené v testovací soupravě **cobas® Strep A** a v soupravě pro kontrolu kvality **cobas® Strep A Quality Control Kit**. Použití jiných přenosových pipet může vést k neplatným výsledkům.

VII. Odběr, manipulace a skladování vzorků

A. Odběr výtěru z krku

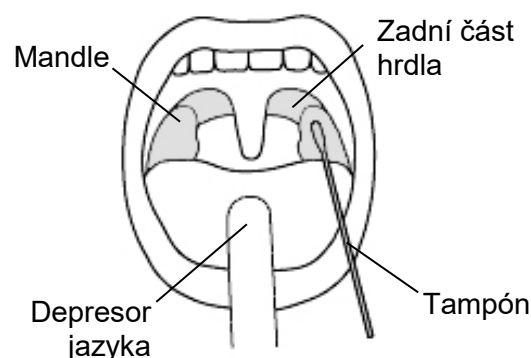
Materiály: odběrový a transportní systém s kapalným médiem Amies, který obsahuje sterilní tampón a zkumavku naplněnou 1 ml tekutého transportního média Amies. **NEPOUŽÍVEJTE** vatové nebo kalcium alginátové tampóny ani tampóny s dřevěnými dříky. Po odběru vzorku vložte tampón do 1 ml transportního média Amies.

Postup:

1. Uсадte pacienta čelem ke světlu.
2. Vyjměte tampón z ochranného obalu.
3. Požádejte pacienta, aby otevřel ústa co nejvíce dokořán. V případě potřeby použijte depresor jazyka a přitlačte jazyk směrem dolů ke spodině úst, aby bylo vidět hrdlo.
4. Špičkou tampónu setřete pohybem směrem nahoru a dolů zadní část hrdla, mandle a případné bílé skvrny v oblasti mandlí. Vytáhněte tampón z úst.

Pozn.: NEDOTÝKEJTE se tampónem jazyka, tváří, zubů ani dásní.

5. Vložte tampón do zkumavky s transportním médiem Amies. Tampón třikrát otáčením otřete proti vnitřní stěně zkumavky. Zlomte dřík tampónu a nechejte tampón ve zkumavce. Důkladně zajistěte uzávěr.



Oblast výtěru z krku

B. Zacházení se vzorky a jejich skladování

- Po orofaryngeálním výtěru pacienta a přenosu vzorku do transportního média Amies by měl být vzorek okamžitě přidán do testovací zkumavky **cobas® Strep A** a co nejdříve by měl být proveden test **cobas® Liat®** na analyzátoru **cobas® Liat®**.
- Pokud vzorky nelze ihned přidat do testovací zkumavky **cobas® Strep A**, jsou vzorky orofaryngeálního výtěru odebrané v transportním médiu Amies stabilní až 48 hodin v chladu (nejlépe 2–8 °C), nebo při pokojové teplotě (20–25 °C).
- Pro přepravu vzorků se doporučuje chlazení při teplotě 2–8 °C. Zajistěte, aby byly dodrženy všechny platné předpisy pro přepravu biologických agens.

VIII. Postup testu

Pozn.:

- Podrobné informace o provozu systému **cobas® Liat®** naleznete v uživatelské příručce k systému (v případě verze softwaru 3.2 nebo nižší v provozní příručce).
- Abyste předešli chybám a křížové kontaminaci vzorků, měňte si mezi jednotlivými vzorky rukavice a pracujte vždy jen s jedním vzorkem. **NEPŘIDÁVEJTE** více vzorků do více testovacích zkumavek **cobas® Strep A** najednou.

A. Přidání šarže testovacích zkumavky **cobas® Strep A**

Před použitím nové šarže testovacích zkumavek **cobas® Strep A** je třeba na analyzátoru provést postup „Přidání šarže“, aby se ověřila šarže testovacích zkumavek **cobas® Strep A** na vašem pracovišti. Postup zahrnuje provedení negativního a pozitivního kontrolního vzorku.

Pokud se pokusíte provést test pomocí nové nevalidované šarže, analyzátor vás vyzve k přidání šarže. Můžete také porovnat číslo šarže na testovací zkumavce **cobas® Strep A** se seznamem validovaných šarží testovacích zkumavek v kroku 1 níže a zkontrolovat, zda již byla šarže dříve přidána.



Užitečná rada: pro tento postup jsou zapotřebí 4 čárové kódy. Dbejte na to, abyste na výzvu analyzátoru nasníмали správný čárový kód.

- Čárový kód příbalového letáku na kartě s čárovým kódem na příbalovém letáku: je obsažen v tomto balení testovacích zkumavek **cobas® Strep A**. Tento čárový kód je specifický pro danou šarži. Srovnajte číslo šarže vedle čárového kódu s číslem šarže na testovacích zkumavkách **cobas® Strep A**.
- Čárový kód testovacích zkumavky **cobas® Strep A**: na pouzdře testovací zkumavky **cobas® Strep A**.
- Čárový kód negativní kontroly: na kartě kontrolní soupravy s čárovým kódem obsažené v soupravě QC. Srovnajte číslo šarže vedle čárového kódu s číslem šarže na zkumavkách Dilution Amies.
- Čárový kód pozitivní kontroly: na kartě kontrolní soupravy s čárovým kódem obsažené v soupravě QC. Srovnajte číslo šarže vedle čárového kódu s číslem šarže na zkumavkách s pozitivní kontrolou.

Materiály:

- Z balení testovacích zkumavek **cobas® Strep A**:
 - ⟨ Karta s čárovým kódem na příbalovém letáku
 - ⟨ 2 testovací zkumavky **cobas® Strep A**
- Ze soupravy pro kontrolu kvality **cobas® Strep A** Quality Control (QC) Kit:
 - ⟨ Negativní kontrola: čárový kód negativní kontroly (viz karta kontrolní soupravy s čárovým kódem), 1 zkumavka Dilution Amies (používá se jako negativní kontrolní vzorek)
 - ⟨ Pozitivní kontrola: čárový kód pozitivní kontroly (viz karta kontrolní soupravy s čárovým kódem), 1 zkumavka s pozitivní kontrolou, 1 zkumavka Dilution Amies (slouží ke smíchání s pozitivní kontrolou), 1 přenosová pipeta

Postup:

1. Příprava a testování negativního kontrolního vzorku

a. Získejte:

- ⟨ Čárový kód příbalového letáku na kartě s čárovým kódem na příbalovém letáku obsažený v tomto balení testovacích zkumavek **cobas® Strep A**
- ⟨ Čárový kód negativní kontroly na kartě kontrolní soupravy s čárovým kódem
- ⟨ 1 zkumavku Dilution Amies (používá se jako negativní kontrolní vzorek)
- ⟨ 1 testovací zkumavku **cobas® Strep A** z této šarže

b. V hlavní nabídce analyzátoru zvolte **Nabídka testů**.

c. V dolní části seznamu zvolte možnost **Nová šarže**.

d. Zvolte **Nasnímat** a nasnímejte čárový kód příbalového letáku na kartě s čárovým kódem na příbalovém letáku z tohoto balení testovacích zkumavek **cobas® Strep A**.

e. Zvolte **Nasnímat** a nasnímejte čárový kód negativní kontroly na kartě kontrolní soupravy s čárovým kódem. Analyzátor zobrazí výzvu „*Přidat neg.kontr. a nasnímat ID zkumavky*“.

f. Vezměte zkumavku Dilution Amies ze soupravy QC. Tato zkumavka se použije jako negativní kontrolní vzorek. Držte zkumavku Dilution Amies za uzávěr zkumavky a rychlým prudkým pohybem zápěstí směrem dolů protřepejte kapalinu ve zkumavce. Vizually zkontrolujte, zda se roztok Dilution Amies shromáždil na dně zkumavky. Pokud tomu tak není, opakujte postup protřepání.

g. Použijte zkumavku Dilution Amies jako vzorek a proveďte test podle postupu Spuštění testu **cobas® Strep A**, krok B.2.c–i (Přidání vzorku) a B.3 (Vložení testovací zkumavky **cobas® Strep A**).

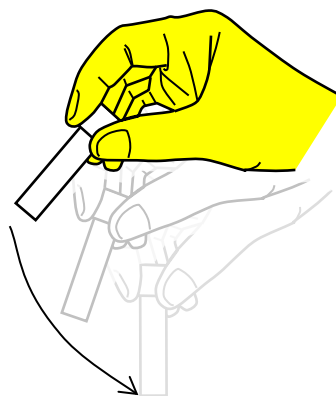
h. Pokud se na konci cyklu zobrazí „*Výsledek negativní kontroly byl přijat.*“ zvolte **Potvrdit** (pokud je verze softwaru 3.2 nebo nižší, zvolte **OK**). Pokud je výsledek zamítnut, opakujte běh negativní kontroly (krok A.1). Pokud opakovaný běh kontroly nepřinese očekávané výsledky, obraťte se na svého zástupce servisu společnosti Roche.

i. Zvolte **Potvrdit** (pokud je verze softwaru 3.2 nebo nižší, zvolte **Zpět**).

2. Příprava pozitivního kontrolního vzorku

a. Ze soupravy QC vezměte následující materiál:

- ⟨ 1 přenosovou pipetu
- ⟨ 1 zkumavku s pozitivní kontrolou obsahující na dně zkumavky peletu vysušeného chemicky inaktivovaného Strep A
- ⟨ 1 zkumavku Dilution Amies obsahující jednotkovou dávku média Amies, která se smíchá s pozitivní kontrolou



Obsah zkumavky **protřepejte** rychlým prudkým pohybem zápěstí směrem dolů.

b. Držte zkumavku Dilution Amies za uzávěr zkumavky a rychlým prudkým pohybem zápěstí směrem dolů protřepejte kapalinu ve zkumavce. Vizuálně zkontrolujte, že se kapalina shromáždila na dně zkumavky. Pokud tomu tak není, opakujte postup protřepání.

c. Pomocí přenosové pipety přeneste kapalinu ze zkumavky Dilution Amies do zkumavky s pozitivní kontrolou:

i. Před přidáním Dilution Amies zkontrolujte, zda se peleta pozitivní kontroly nachází na dně zkumavky. Pokud před rehydratací není peleta vidět, pozitivní kontrolu nepoužívejte.



ii. Stlačte balónek pipety, dokud nebude zcela stlačený. Držte balónek pipety zcela stlačený a vložte špičku pipety těsně pod hladinu kapaliny ve zkumavce Dilution Amies.

iii. Pomalu balónek zcela uvolněte, a přitom držte špičku pipety pod hladinou kapaliny. Uvidíte, jak se kapalně médium Amies do pipety nasává. Balónek zcela uvolněte a vyjměte pipetu ze zkumavky Dilution Amies. Je normální, že i po úplném uvolnění balónku pipety zůstane ve zkumavce Dilution Amies malý objem kapaliny.

iv. Vložte pipetu do zkumavky s pozitivní kontrolou tak, aby se špička dotýkala dna zkumavky.



v. Pomalu stlačte balónek, aby se obsah pipety uvolnil. Neuvolňujte balónek pipety.

vi. Držte balónek pipety stále stlačený a vyjměte pipetu ze zkumavky. Přenosovou pipetu zlikvidujte podle pokynů vaší instituce pro bezpečnou likvidaci nebezpečného materiálu. Přenosové pipety nepoužívejte opakovaně.

vii. Uzavřete zkumavku s pozitivní kontrolou. Držte zkumavku s pozitivní kontrolou za uzávěr a rychlým prudkým pohybem zápěstí směrem dolů protřepejte kapalinu ve zkumavce.

d. Zkumavku s pozitivní kontrolou nechte 5 minut odstát. Během této doby se vysušený materiál pozitivní kontroly ve zkumavce začne rozpouštět.

3. Test pozitivního kontrolního vzorku

a. Získejte:

< Čárový kód pozitivní kontroly na kartě kontrolní soupravy s čárovým kódem

< 1 testovací zkumavku **cobas® Strep A** z této šarže

b. Na analyzátoru použitém pro test negativní kontroly zvolte **Nasnímat** a nasnímejte čárový kód pozitivní kontroly na kartě kontrolní soupravy s čárovým kódem. Analyzátor zobrazí výzvu „Přidat poz.kontr.a nasnímat ID zkumavky“.

c. Poté, co zkumavku s pozitivní kontrolou z kroku A.2 necháte 5 minut odstát, použijte přenosovou pipetu ze sáčku s testovací zkumavkou **cobas® Strep A** a 10krát pomalu vzorek pozitivní kontroly napipetujte a vypusťte, aby se rozpustil a promíchal.

d. Použijte zkumavku s pozitivní kontrolou jako vzorek a proveďte test podle postupu Spuštění testu **cobas® Strep A**, krok B.2.c–i (Přidání vzorku) a B.3 (Vložení testovací zkumavky **cobas® Strep A**).

- e. Pokud se na konci cyklu zobrazí „*Výsledek pozitivní kontroly byl přijat.*“ zvolte **Potvrdit** (pokud je verze softwaru 3.2 nebo nižší, zvolte **OK**), zvolte **Zpět** pro návrat do nabídky testů. Pokud je výsledek zamítnut, opakujte běh pozitivní kontroly (kroky A.2 a A.3). Pokud opakovaný běh kontroly nepřinese očekávané výsledky, obraťte se na svého zástupce servisu společnosti Roche.

Po dokončení postupu Přidání šarže na jednom analyzátoru použijte pro přenos informací o šarži do ostatních analyzátorů na vašem pracovišti pokročilé nástroje Advanced Tools (pokud je verze softwaru 3.2 nebo nižší, klávesu Advanced Tools Key). To umožní, aby ostatní analyzátory mohly používat tuto šarži testovacích zkumavek **cobas® Strep A**, aniž by bylo nutné provádět postup „Přidání šarže“ na každém z nich. Podrobnosti o obsluze naleznete v příručce pro pokročilé nástroje Advanced Tools pro konkrétní software.

B. Spuštění testu **cobas® Strep A**

Doporučené provozní podmínky prostředí pro test **cobas® Strep A** jsou 15–32 °C, 15–80% relativní vlhkost a nadmořská výška ≤ 2000 m.

Materiály: testovací zkumavka **cobas® Strep A** ze šarže, která byla přidána do analyzátoru. Pokyny pro přidání šarže testovací zkumavky **cobas® Strep A** naleznete v části A.

Postup:

1. Nasnímání čárového kódu

Roztrhněte fóliový obal testovací zkumavky **cobas® Strep A** a vyjměte testovací zkumavku a přenosovou pipetu.

- a. Pomocí dotykové obrazovky nebo funkčního tlačítka zvolte v hlavní nabídce **Cyklus testu**.
- b. Zvolte **Nasnímat** a nasnímejte čárový kód testovací zkumavky **cobas® Strep A** na pouzdru zkumavky tak, že zkumavku položíte na stůl a budete ji posouvat směrem k analyzátoru tak dlouho, dokud nebude červené světlo skeneru svítit přes celý čárový kód.
- c. Znovu zvolte **Nasnímat** a nasnímejte čárový kód pacienta nebo vzorku nebo zvolte **Zadat** a zadejte ID vzorku nebo pacienta.
- d. Pokud je aktivováno ověření pacienta, zobrazí analyzátor stav ověření.
 - i. Pokud je ověření pacienta úspěšné, může analyzátor před zahájením testu vyzvat k potvrzení zadaných informací.
 - ii. Pokud se ověření pacienta nezdaří, analyzátor zobrazí oznámení, že se ověření nezdařilo:
 - ⟨ A může vyžadovat potvrzení před pokračováním testu nebo
 - ⟨ Nelze pokračovat v cyklu testu. V takovém případě se obraťte na správce laboratoře.
- e. Analyzátor zobrazí výzvu „*Přidejte vzorek a znovu nasnímejte ID zkumavky.*“ (pokud je verze softwaru 3.2 nebo nižší zobrazí se „*Přidejte vzorek výtěru z krku a znovu nasnímejte ID zkumavky.*“).

2. Přidání vzorku

Pomocí přenosové pipety vložte cca 200 µl vzorku do testovací zkumavky **cobas® Strep A**. Objem vzorku nemusíte měřit. Pokud bylo vloženo více vzorku, analyzátor objem vzorku upraví, nebo pokud nebylo vloženo dostatečné množství vzorku, zobrazí chybu.

- a. Zkumavku se vzorkem výtěru z krku 5 sekund intenzivně protřepávejte, aby došlo k rovnoměrnému promíchání vzorku pacienta s kapalným médiem.

Pozn.: pokud nedojde k důkladnému promíchání vzorku od pacienta intenzivním protřepáním, může to nepříznivě ovlivnit výsledky testu a vést k falešně negativním výsledkům.

- b. Odšroubujte víčko zkumavky. Sejměte víčko a vyjměte případný připevněný výtěrový tampón, aby bylo možné do vzorkové zkumavky zavést pipetu. Tampón z testovací zkumavky úplně nevytahujte.



- c. Vyjměte přenosovou pipetu ze sáčku s testovací zkumavkou **cobas® Liat®**. Silně stlačte balónek pipety, dokud nebude zcela stlačený.
- d. Držte balónek pipety zcela stlačený a vložte špičku pipety těsně pod hladinu vzorku.
- e. Pomalu balónek uvolněte a přitom držte špičku pipety pod hladinou kapaliny. Tím se do pipety nasaje cca 200 µl vzorku. Balónek zcela uvolněte a vyjměte pipetu ze vzorku.
- f. Odšroubujte uzávěr z testovací zkumavky **cobas® Strep A**.

- g. Sledujte průzor v pouzdře a opatrně do testovací zkumavky **cobas® Strep A** zasuňte pipetu. Umístěte špičku pipety do blízkosti dna přihrádky na vzorek. Neprotrhněte testovací zkumavku ani těsnění na dně.

Pozn.: pokud těsnění na dně přihrádky na vzorek prorazíte, zlikvidujte testovací zkumavku **cobas® Strep A** i přenosovou pipetu podle pokynů vaší instituce pro bezpečnou likvidaci nebezpečného materiálu a opakujte test od kroku 2.b. s novou přenosovou pipetou a testovací zkumavkou **cobas® Strep A**.



- h. Pomalým stisknutím balónku vyprázdněte obsah pipety do testovací zkumavky **cobas® Strep A**. Neuvolňujte balónek pipety.
- i. Držte balónek pipety stále stlačený a vyjměte pipetu z testovací zkumavky. Našroubujte uzávěr zpět na testovací zkumavku **cobas® Strep A**. Přenosovou pipetu zlikvidujte podle pokynů vaší instituce pro bezpečnou likvidaci nebezpečného materiálu. Přenosové pipety nepoužívejte opakovaně.

Pozn.: spusťte běh testu **cobas® Liat®** na analyzátoru co nejdříve, avšak nejpozději 4 hodiny po přidání vzorku do testovací zkumavky **cobas® Strep A**.

3. Vložení testovací zkumavky **cobas® Strep A**

- a. Zvolte **Nasnímat** a znovu nasnímejte čárový kód testovací zkumavky **cobas® Strep A**. Dvířka pro vkládání testovací zkumavky na horní straně analyzátoru se otevřou automaticky.
- b. Sejměte pouzdro z testovací zkumavky **cobas® Strep A**.

- c. Okamžitě vložte testovací zkumavku **cobas® Strep A** tak, aby testovací zkumavka zapadla na místo. Testovací zkumavku **cobas® Strep A** lze zasunout pouze jedním způsobem. Pokud nebyla testovací zkumavka vložena do okamžiku, než se dvířka zavřou, znovu naskenujte čárový kód testovací zkumavky **cobas® Strep A** (krok 3a) a vložte testovací zkumavku **cobas® Strep A** znovu. Jakmile je testovací zkumavka **cobas® Strep A** správně vložena, analyzátor automaticky dvířka zavře a zahájí test.

4. Zobrazte si výsledek

Během testu se na displeji analyzátoru zobrazuje stav běhu a odhad zbývajících času. Ihned po dokončení testu analyzátor zobrazí hlášení „Pomalů a opatrně vyjměte zkumavku.“ a automaticky otevře dvířka pro vkládání testovací zkumavky.

- a. Vyjměte testovací zkumavku **cobas® Strep A** z analyzátoru.
- b. Zvolte možnost **Sestava** a zobrazte si Sestavu s výsledky.
- c. Zvolte možnost **Tisk** a sestavu vytiskněte (pokud je k dispozici).

Zvolením možnosti **Zpět** a poté **Hlavní** se vrátíte do hlavní nabídky a můžete provést další test.

C. Zobrazení a interpretace výsledků

Analyzátor hlásí výsledky jako Strep A „Detekováno“, „Nedetekováno“, „Nejednoznačný“ nebo „Neplatný test“.

Ruční interpretace dat a prohlížení křivek PCR, které můžete znát z jiných systémů, již není vyžadována. Analyzátor automaticky interpretuje výsledky z naměřených fluorescenčních signálů. Zabudované výpočetní algoritmy stanoví prahovou hodnotu cyklu (Ct) PCR a vyhodnotí Ct a koncový bod fluorescence s ohledem na platný rozsah, aby byl výsledek PCR pozitivní nebo negativní.

Algoritmy pro rozpoznávání vzorů navíc kontrolují křivky PCR a určují, zda vzor křivky odpovídá specifikaci nebo je abnormální. Pokud je Strep A detekován, ale jeho křivka PCR je stanovena jako abnormální, výsledek se nazývá „Strep A Nejednoznačný“.

Stejně jako cíl Strep A je v každém testu hodnocen také cíl IPC. Aby byl výsledek označen jako „Nedetekováno“ musí být v případě, že není detekován cíl Strep A, detekován cíl IPC. Pokud není detekován ani cíl IPC nebo pokud je křivka PCR IPC abnormální, je výsledek označen jako „Neplatný test“ (pokud je verze softwaru 3.2 nebo nižší, „Neplatný test. Opakujte test.“). V některých případech může vysoká koncentrace Strep A inhibovat amplifikaci IPC. Z tohoto důvodu se IPC při detekci Strep A nebere v úvahu.

V následující tabulce jsou uvedeny výsledky sestavy a odpovídající interpretace.

Interpretace výsledků

Výsledky nahlaste	Interpretace
Strep A Nedetekováno	Negativní test na Strep A (nebyla detekována žádná DNA Strep A)
Strep A Detekováno	Pozitivní test na Strep A (přítomna DNA Strep A)
Strep A Nejednoznačný	Přítomnost nebo nepřítomnost Strep A nelze určit. Opakujte test u stejného vzorku nebo, je-li to možné, u nového vzorku.
Neplatný test (pokud je verze softwaru 3.2 nebo nižší, „Neplatný test. Opakujte test.“)	Přítomnost nebo nepřítomnost Strep A nelze určit. Opakujte test u stejného vzorku nebo, je-li to možné, u nového vzorku.
[Chyba] Test přerušen	Přítomnost nebo nepřítomnost Strep A nelze určit. Opakujte test u stejného vzorku nebo, je-li to možné, u nového vzorku.

Po dokončení běhu se v sestavě s výsledky mohou zobrazit následující kódy chyb.

Kódy chyby	Vzorek a externí kontroly	Negativní kontrola (Přidání šarže)	Pozitivní kontrola (Přidání šarže)
r0*	IPC nedetekováno nebo nejednoznačné. Opakujte běh	IPC nedetekováno nebo nejednoznačné. Opakujte běh	IPC nedetekováno nebo nejednoznačné. Opakujte běh
r1			
r2			
r3			
r4			
x4	Cíl nejednoznačný. Opakujte běh	Nehodí se	Nehodí se
FP	Nehodí se	Cíl detekován nebo nejednoznačný. Opakujte běh	Nehodí se
b1	Nehodí se	Nehodí se	Cíl nedetekován nebo nejednoznačný. Opakujte běh
b2			
b3			
b4			

Pozn.*: kód chyby r0 se nezobrazuje pro pozitivní kontrolu (Přidání šarže).

Kromě toho se mohou objevit kódy vzorů. V případě jakýchkoli dotazů se obraťte na zástupce servisu společnosti Roche.

D. Důvody pro opakování testu

Pokud je výsledek testu „Nejednoznačný“ nebo „Neplatný“, opakujte test se stejným vzorkem od pacienta, nebo pokud je to možné, odeberte pacientovi nový vzorek a opakujte test za použití nového vzorku. Vzorky s opakovaným výsledkem „Nejednoznačný“ nebo „Neplatný“ by měly být odeslány do laboratoře ke konfirmačnímu testování alternativní metodou.

Pokud analyzátor ohlásí „Chyba“ a/nebo je test přerušen, opakujte test se stejným vzorkem od pacienta, nebo pokud je to možné, odeberte pacientovi nový vzorek a opakujte test za použití nového vzorku. Pokud dojde k opakovanému hlášení „Chyba“, obraťte se na svého zástupce servisu společnosti Roche.

E. Kontrola kvality

CONTROL

Vnitřní kontrola zpracování (IPC) je chemicky inaktivovaná bakterie, která je součástí každé testovací zkumavky **cobas® Strep A**, aby bylo možné ověřit adekvátní zpracování vzorku Strep A. IPC ověřuje, že došlo k purifikaci vzorku Strep A, a potvrzuje, že zpracování vzorku je adekvátní. Kromě toho tato kontrola detekuje potenciální inhibici spojenou se vzorkem při přípravě vzorku nebo PCR. IPC by měla být pozitivní u negativního vzorku a může být negativní nebo pozitivní u pozitivního vzorku Strep A. IPC je platná, pokud splňuje akceptační kritéria.

Externí kontroly: poskytují dodatečnou kontrolu kvality za účelem prokázání pozitivních nebo negativních výsledků testu pomocí systému a testovací zkumavky **cobas® Strep A**. Externí kontroly se provádějí během postupu Přidejte šarži testovací zkumavky **cobas® Strep A** (část A). Přídavné externí kontroly by se měly testovat v souladu s celostátními, místními, federálními požadavky anebo požadavky akreditačních organizací, podle potřeby. Pokud testování pozitivní nebo negativní kontroly nepřinese očekávané výsledky, zopakujte dotčený běh kontroly s novou externí kontrolou. Pokud opakovaný běh kontroly nepřinese očekávané výsledky, netestujte vzorek od pacienta a obraťte se na svého zástupce servisu společnosti Roche.

Negativní kontrola

Materiály:

- ⟨ 1 testovací zkumavka **cobas® Strep A**
- ⟨ Ze soupravy QC: 1 zkumavka Dilution Amies (používá se jako negativní kontrolní vzorek) a čárový kód negativní kontroly na kartě kontrolní soupravy s čárovým kódem

Postup:

Zkumavka Dilution Amies se v cyklu negativní kontroly používá jako vzorek.

1. Vezměte zkumavku Dilution Amies ze soupravy QC.
2. Držte zkumavku Dilution Amies za uzávěr zkumavky a rychlým prudkým pohybem zápěstí směrem dolů (jako když třepete rtuťovým teploměrem) protřepejte kapalinu ve zkumavce. Vizuálně zkontrolujte, zda se roztok Dilution Amies shromáždil na dně zkumavky. Pokud tomu tak není, opakujte postup protřepání.
3. Použijte zkumavku Dilution Amies jako vzorek a proveďte test podle postupu Spuštění testu **cobas® Strep A**, (část B, přeskočte krok B.2.a–b). Nasnímejte čárový kód negativní kontroly na kartě kontrolní soupravy s čárovým kódem jako ID vzorku.
4. Po dokončení testu zobrazte sestavu s výsledky dotykem nebo klepnutím na **Sestava**. Aby negativní kontrola prošla, musí být výsledek sestavy „*Strep A Nedetekováno*“.

Pozitivní kontrola

Materiály:

- < 1 testovací zkušavka **cobas® Strep A**
- < Ze soupravy QC: 1 zkušavka s pozitivní kontrolou, 1 zkušavka Dilution Amies, 1 přenosová pipeta a čárový kód pozitivní kontroly na kartě kontrolní soupravy s čárovým kódem

Postup:

Pozitivní kontrola je jednotková dávka sušeného chemicky inaktivovaného Strep A. Podle níže uvedených pokynů rozpustíte pozitivní kontrolu ve zkušavce Dilution Amies a použijte ji v testu **cobas® Strep A**.

1. Při přípravě vzorku pozitivní kontroly postupujte podle kroku A.2. postupu Přidání šarže testovací zkušavky **cobas® Strep A**.
2. Poté, co zkušavku s pozitivní kontrolou z kroku A.2 necháte 5 minut odstát, použijte přenosovou pipetu z balení s testovací zkušavkou **cobas® Strep A** a 10krát pomalu vzorek pozitivní kontroly napipetujte a vypustíte, aby se rozpustil a promíchal.
3. Použijte pozitivní kontrolu jako vzorek a proveďte test podle postupu Spuštění testu **cobas® Strep A**, (část B, přeskočte krok B.2.a–b). Nasnímejte čárový kód pozitivní kontroly na kartě kontrolní soupravy s čárovým kódem jako ID vzorku.
4. Po dokončení testu zobrazte sestavu s výsledky dotykem nebo klepnutím na **Sestava**. Aby pozitivní kontrola prošla, musí být výsledek sestavy „*Strep A Detekováno*“.

IX. Omezení

- Výkonnost testu **cobas® Strep A** byla hodnocena pouze pomocí postupů uvedených v tomto příbalovém letáku. Úpravy těchto postupů mohou změnit výsledky testu.
- Stejně jako je tomu u jiných testů, negativní výsledky nevylučují infekci Strep A a neměly by se používat jako jediný podklad pro stanovení léčby nebo jiná rozhodnutí o léčbě pacientů. Výsledky testu **cobas® Strep A** by se měly interpretovat ve spojení s dalšími laboratorními a klinickými údaji, které má lékař k dispozici.
- Pokud je výsledek testu **cobas® Strep A** negativní a klinické příznaky přetrvávají nebo v případě propuknutí akutní revmatické horečky (ARF), je nutné provést další kontrolní kultivační vyšetření.
- Cílové analyty (bakteriální nukleové kyseliny) mohou přetrvávat *in vivo* nezávisle na životaschopnosti patogenu. Detekce cílových analytů neznamena, že příslušný patogen je infekční nebo že je původcem klinických příznaků.
- Falešně negativní výsledky se mohou vyskytnout, pokud je vzorek nesprávně odebrán, přepravován nebo se s ním nesprávně manipuluje nebo pokud je ve vzorku přítomno nedostatečné množství organismů.
- Tento test nebyl hodnocen u pacientů bez příznaků infekce Strep A.
- Jedná se o kvalitativní test, který neposkytuje kvantitativní hodnotu detekovaného přítomného organismu.
- Zkřížená reaktivita s jinými než testovanými organismy může vést k chybným výsledkům.
- Tento test neumožňuje detekci jiných patogenů než *Streptococcus pyogenes*.

- Aby se zabránilo kontaminaci vzorků nebo reagensů, doporučuje se dodržovat postupy správné laboratorní praxe a při manipulaci se vzorky od pacientů si mezi jednotlivými vzorky měnit rukavice.

X. Očekávané hodnoty

V multicentrických klinických studiích testu **cobas® Strep A** bylo analyzováno 570 vzorků výtěrů z krku. Počet a procento pozitivních případů podle specifikované věkové skupiny a pohlaví, jak je určil test **cobas® Strep A**, jsou uvedeny v následující tabulce:

Věk	Počet vzorků	Procento vzorků	Počet pozitivních	Podíl pozitivních (%)
≤ 5 let	141	24,7 %	59	41,8 %
6–21 let	401	70,4 %	130	32,4 %
22–59 let	25	4,4 %	4	16,0 %
≥ 60 let	3	0,5 %	0	0,0 %
Celkem	570	100 %	193	33,9 %

Pohlaví	Počet vzorků	Procento vzorků	Počet pozitivních	Podíl pozitivních (%)
M	268	47,0 %	100	37,3 %
Ž	302	53,0 %	93	30,8 %
Celkem	570	100 %	193	33,9 %

XI. Funkční charakteristiky

A. Klinické výsledky

Test **cobas® Strep A** byl hodnocen v období od prosince 2013 do dubna 2014 na 6 klinických pracovištích, včetně 5 pracovišť, která jsou osvobozena od CLIA, a která ve Spojených státech reprezentují geograficky odlišné regiony. Klinické vzorky byly odebrány od pacientů se symptomy charakteristickými pro faryngitidu. Funkční charakteristiky testu byly určeny na základě srovnání s kultivací a latexovou aglutinací pro typizaci Strep A. Nesouhlasné výsledky byly vyšetřeny pomocí PCR a obousměrného sekvenování na základě publikovaných metod.

Níže uvedené tabulky shrnují klinické výsledky testu **cobas® Strep A**. Citlivost testu byla 98,3 % (95% IS: 95,0 % až 99,4 %) a specificita testu byla 94,2 % (95% IS: 91,5 % až 96,1 %).

Krok A		Srovnávací kultivace		Celkem
		Pozitivní	Negativní	
cobas® Liat®	Pozitivní	170	23 ^a	193
	Negativní	3 ^b	374	377
	Celkem	173	397	570

^a Z 23 vzorků pozitivních dle **cobas® Liat®** a negativních dle kultivace, bylo všech 23 vzorků dle PCR/sekvenování pozitivních na Strep A.

^b Ze 3 vzorků negativních dle **cobas® Liat®** a pozitivních dle kultivace, byly 3 vzorky dle PCR/sekvenování pozitivní na Strep A. Všechny 3 byly rovněž pozitivní po opakování testu **cobas® Liat®** za použití zbytkového vzorku po kultivaci.

	Č.	%	95% CI
Senzitivita	170 / 173	98,3 %	95,0–99,4 %
Specificita	374 / 397	94,2 %	91,5–96,1 %
Správnost	544 / 570	95,4 %	93,4–96,9 %
Rozšíření	173 / 570	30,4 %	26,7–34,2 %
PPV	170 / 193	88,1 %	82,8–91,9 %
NPV	374 / 377	99,2 %	97,7–99,7 %
Neplatný ^c	7 / 577	1,2 %	0,6–2,5 %

^c Míra zahrnuje všechny výsledky testu označené jako Neplatný, Nejednoznačný a Test přerušen. Ve všech případech přineslo opakované testování stejných vzorků platný výsledek.

B. Reprodukovatelnost

Studie reprodukovatelnosti byla provedena za účelem posouzení celkové variability testu **cobas® Strep A** mezi různými pracovníky obsluhy, pracovišti studie, dny testování, analyzátory a šaržemi testovacích zkumavek **cobas® Strep A**. Test **cobas® Strep A** byl hodnocen na 3 pracovištích. Dva pracovníci obsluhy na každém ze 3 pracovišť testovali 4členný panel reprodukovatelnosti ve třech opakováních v 5 různých dnech, celkem tedy 360 testů (4 členové panelu × 3 opakování × 2 pracovníci obsluhy × 5 dní × 3 pracoviště). Bylo použito devět (9) analyzátorů a 3 šarže testovacích zkumavek **cobas® Strep A**. Panel reprodukovatelnosti se skládá z negativního, vysoce negativního (C5: $0,03 \times \text{LoD}$), nízce pozitivního (C95: $1 \times \text{LoD}$) a středně pozitivního (C100: $3 \times \text{LoD}$) vzorku Strep A.

V níže uvedených tabulkách jsou uvedeny výsledky reprodukovatelnosti pro Strep A a vnitřní kontrolu zpracování (IPC). Celková procentuální shoda byla 99,7 % pro Strep A a 100 % pro IPC. U negativních a vysoce negativních vzorků byl očekávaný výsledek negativní; u nízce pozitivních a středně pozitivních vzorků byl očekávaný výsledek pozitivní.

Výsledky reprodukovatelnosti pro Strep A

Pracoviště	1					2					3					Celkem					
Vzorek	Shoda	Ct		Amp		Shoda	Ct		Amp		Shoda	Ct		Amp		Shoda	Ct		Amp		95% CI
		Prů- měrná hod- nota	%CV	Prů- měrná hod- nota	%CV		Prů- měrná hod- nota	%CV	Prů- měrná hod- nota	%CV		Prů- měrná hod- nota	%CV	Prů- měrná hod- nota	%CV		Prů- měrná hod- nota	%CV			
Neg.	30/30	-	-	-	-	30/30	-	-	-	-	30/30	-	-	-	-	90/90 (100 %)	-	-	-	-	95,9– 100,0 %
C5	30/30	-	-	-	-	30/30	-	-	-	-	30/30	-	-	-	-	90/90 (100 %)	-	-	-	-	95,9– 100,0 %
C95	29/30	29,4	2 %	1,8	29 %	30/30	29,8	4 %	1,5	44 %	30/30	29,2	3 %	1,8	32 %	89/90 (99 %)	29,5	3 %	1,7	35 %	94,0– 99,8 %
C100	30/30	27,2	2 %	3,2	10 %	30/30	27,9	2 %	2,8	14 %	30/30	26,8	2 %	3,2	8 %	90/90 (100 %)	27,3	3 %	3,0	12 %	95,9– 100,0 %
Celková shoda	119 / 120 (99,2 %)					120 / 120 (100 %)					120 / 120 (100 %)					359 / 360 (99,7 %)					98,4– 100,0 %

Amp = hodnota fluorescence v koncovém bodě

Výsledky reprodukovatelnosti pro IPC

Praco- viště	1					2					3					Celkem					
Vzorek	Shoda	Ct		Amp		Shoda	Ct		Amp		Shoda	Ct		Amp		Shoda	Ct		Amp		95% CI
		Prů- měrná hod- nota	%CV	Prů- měrná hod- nota	%CV		Prů- měrná hod- nota	%CV	Prů- měrná hod- nota	%CV		Prů- měrná hod- nota	%CV	Prů- měrná hod- nota	%CV		Prů- měrná hod- nota	%CV			
Neg.	30/30	29,0	2 %	2,9	13 %	30/30	29,0	2 %	2,9	12 %	30/30	29,1	2 %	2,8	12 %	90/90 (100 %)	29,0	2 %	2,9	13 %	95,9– 100,0 %
C5	30/30	28,8	2 %	3,0	13 %	30/30	29,1	2 %	2,9	15 %	30/30	29,1	2 %	2,7	16 %	90/90 (100 %)	29,0	2 %	2,9	15 %	95,9– 100,0 %
C95	30/30	28,9	2 %	3,0	11 %	30/30	28,8	2 %	2,9	10 %	30/30	29,1	1 %	2,6	10 %	90/90 (100 %)	28,9	2 %	2,8	12 %	95,9– 100,0 %
C100	30/30	28,5	2 %	2,7	12 %	30/30	28,8	2 %	2,7	11 %	30/30	28,7	2 %	2,2	16 %	90/90 (100 %)	28,7	2 %	2,5	15 %	95,9– 100,0 %
Celková shoda	120 / 120 (100 %)					120 / 120 (100 %)					120 / 120 (100 %)					360 / 360 (100 %)					98,9– 100,0 %

Amp = hodnota fluorescence v koncovém bodě

C. Mez detekce

Mez detekce (*Limit of Detection*, LoD) testu **cobas®** Strep A byla stanovena pomocí studií limitního ředění s použitím titrovaných bakterií 4 kmenů Strep A. Bakterie byly přidány do matrice vzorku výtěru z krku a poté testovány pomocí testu **cobas®** Strep A. LoD byla stanovena jako nejnižší koncentrace bakterií, která byla detekována u ≥ 95 % případů (tj. alespoň 19 z 20 testovaných opakování bylo pozitivních). Test **cobas®** Strep A detekoval všechny testované kmeny s LoD v rozmezí 5–20 CFU/ml nebo 1–4 CFU/test.

Kmen	LoD	
	CFU/ml	CFU/test
ATCC BAA-946	5	1
ATCC BAA-1066	10	2
ATCC 12370	10	2
ATCC 700294	20	4

D. Analytická reaktivita

Za účelem vyhodnocení schopnosti testu **cobas®** Strep A detekovat kmeny Strep A představující časovou a geografickou rozmanitost byla provedena studie reaktivity. Kromě kmenů testovaných ve studii LoD byl test **cobas®** Strep A hodnocen z hlediska reaktivity s 5 kmeny Strep A v množství 20–80 CFU/ml nebo 4–16 CFU/test. Bakterie byly přidány do matrice vzorku výtěru z krku a poté testovány pomocí testu **cobas®** Strep A. Test detekoval všechny testované kmeny.

Kmen	Testovaná koncentrace		Výsledek Strep A
	CFU/ml	CFU/test	
ATCC 700497	20	4	+
ATCC 700949	20	4	+
ATCC 700499	40	8	+
ATCC 21548	40	8	+
ATCC 10403	80	16	+

E. Zkřížená reaktivita

Za účelem vyhodnocení potenciálu testu **cobas® Strep A** zkříženě reagovat s jinými mikroorganismy, které mohou být přítomny ve vzorcích výtěru z krku, byla provedena studie zkřížené reaktivity. Test **cobas® Strep A** byl hodnocen na panelu 72 mikroorganismů. Bakterie byly testovány v koncentraci $\geq 10^6$ CFU/ml. Viry byly testovány v koncentraci $\geq 10^5$ TCID₅₀/ml, nebo v nejvyšší dostupné koncentraci. Test **cobas® Strep A** nevykázal žádnou zkříženou reaktivitu s testovanými mikroorganismy.

Mikroorganismus	Testovaná koncentrace	Výsledek Strep A
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	4,40×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Bacillus cereus</i>	2,90×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Bacteroides oralis</i>	1,55×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Bordetella parapertussis</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Bordetella pertussis</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Burkholderia cepacia</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Campylobacter rectus</i>	1,45×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Candida albicans</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	1,40×10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	–
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1,25×10 ⁶ EB/ml	–
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Enterococcus faecalis</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Enterococcus faecium</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Escherichia coli</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Haemophilus influenzae</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1,20×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Lactococcus lactis</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Legionella jordanis</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Legionella micdadei</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Legionella pneumophila</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Listeria monocytogenes</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Moraxella catarrhalis</i> (2 kmeny)	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Moraxella lacunata</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,25×10 ⁶ kopii/ml†	–
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1,25×10 ⁶ kopii/ml†	–
<i>Neisseria lactamica</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Neisseria meningitidis</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–

Mikroorganismus	Testovaná koncentrace	Výsledek Strep A
<i>Neisseria mucosa</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Neisseria sicca</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Neisseria subflava</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Proteus mirabilis</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Proteus vulgaris</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Serratia marcescens</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Streptococcus anginosus</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Streptococcus bovis</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Streptococcus canis</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Streptococcus constellatus</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Streptococcus equi</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Streptococcus gallolyticus</i>	1,60×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Streptococcus intermedius</i>	1,10×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Streptococcus mitis</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Streptococcus mutans</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Streptococcus oralis</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Streptococcus salivarius</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Streptococcus sanguis</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Treponema denticola</i>	1,63×10 ⁶ kopii/ml [†]	–
<i>Veillonella parvula</i>	2,13×10 ⁶ CFU/ml	–
<i>Yersinia enterocolitica</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	–
Adenovirus typu 1	4,45×10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	–
Adenovirus typu 7	4,45×10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	–
Cytomegalovirus	1,00×10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	–
Virus Epstein-Barrové	2,15×10 ⁵ kopii/ml	–
Virus hepatitidy B	5,00×10 ⁵ kopii/ml	–
Virus herpes simplex typu 1	2,80×10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	–
Lidský papilloma virus typ 11	2,50×10 ⁵ kopii/ml	–
Lidský papilloma virus typ 6	2,50×10 ⁵ kopii/ml	–

[†] Testování bylo provedeno s genomovou DNA z důvodu obtížného množení těchto bakterií.

F. Interferující mikroorganismy

Za účelem vyhodnocení, zda jiné mikroorganismy, které mohou být přítomny ve vzorcích výtěru z krku, mohou interferovat s detekcí Strep A pomocí testu **cobas® Strep A**, byla provedena studie interferujících mikroorganismů. Bylo testováno 72 mikroorganismů na potenciální interferenci s detekcí Strep A. Bakterie byly testovány v koncentraci $\geq 10^6$ CFU/ml a viry byly testovány v koncentraci $\geq 10^5$ TCID₅₀/ml, nebo v nejvyšší dostupné koncentraci, za přítomnosti Strep A v koncentraci $3 \times \text{LoD}$ v matrici výtěru z krku. Výsledky ukazují, že přítomnost testovaných mikroorganismů neinterferovala s detekcí Strep A.

Mikroorganismus	Testovaná koncentrace	Výsledek Strep A
<i>Acinetobacter baumannii</i>	$1,25 \times 10^6$ CFU/ml	+
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	$4,40 \times 10^6$ CFU/ml	+
<i>Bacillus cereus</i>	$2,90 \times 10^6$ CFU/ml	+
<i>Bacteroides oralis</i>	$1,55 \times 10^6$ CFU/ml	+
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	$1,25 \times 10^6$ CFU/ml	+
<i>Bordetella parapertussis</i>	$1,25 \times 10^6$ CFU/ml	+
<i>Bordetella pertussis</i>	$1,25 \times 10^6$ CFU/ml	+
<i>Burkholderia cepacia</i>	$1,25 \times 10^6$ CFU/ml	+
<i>Campylobacter rectus</i>	$1,45 \times 10^6$ CFU/ml	+
<i>Candida albicans</i>	$1,25 \times 10^6$ CFU/ml	+
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	$1,40 \times 10^5$ TCID ₅₀ /ml	+
<i>Chlamydia trachomatis</i>	$1,25 \times 10^6$ EB/ml	+
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	$1,25 \times 10^6$ CFU/ml	+
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	$1,25 \times 10^6$ CFU/ml	+
<i>Enterococcus faecalis</i>	$1,25 \times 10^6$ CFU/ml	+
<i>Enterococcus faecium</i>	$1,25 \times 10^6$ CFU/ml	+
<i>Escherichia coli</i>	$1,25 \times 10^6$ CFU/ml	+
<i>Haemophilus influenzae</i>	$1,25 \times 10^6$ CFU/ml	+
<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	$1,25 \times 10^6$ CFU/ml	+
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	$1,25 \times 10^6$ CFU/ml	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	$1,25 \times 10^6$ CFU/ml	+
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	$1,20 \times 10^6$ CFU/ml	+
<i>Lactococcus lactis</i>	$1,25 \times 10^6$ CFU/ml	+
<i>Legionella jordanis</i>	$1,25 \times 10^6$ CFU/ml	+
<i>Legionella micdadei</i>	$1,25 \times 10^6$ CFU/ml	+
<i>Legionella pneumophila</i>	$1,25 \times 10^6$ CFU/ml	+
<i>Listeria monocytogenes</i>	$1,25 \times 10^6$ CFU/ml	+
<i>Moraxella catarrhalis</i> (2 kmeny)	$1,25 \times 10^6$ CFU/ml	+
<i>Moraxella lacunata</i>	$1,25 \times 10^6$ CFU/ml	+
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	$1,25 \times 10^6$ kopii/ml [†]	+
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	$1,25 \times 10^6$ kopii/ml [†]	+
<i>Neisseria lactamica</i>	$1,25 \times 10^6$ CFU/ml	+

Mikroorganismus	Testovaná koncentrace	Výsledek Strep A
<i>Neisseria meningitidis</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	+
<i>Neisseria mucosa</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	+
<i>Neisseria sicca</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	+
<i>Neisseria subflava</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	+
<i>Proteus mirabilis</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	+
<i>Proteus vulgaris</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	+
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	+
<i>Serratia marcescens</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	+
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	+
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	+
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	+
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	+
<i>Streptococcus anginosus</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	+
<i>Streptococcus bovis</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	+
<i>Streptococcus canis</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	+
<i>Streptococcus constellatus</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	+
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	+
<i>Streptococcus equi</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	+
<i>Streptococcus gallolyticus</i>	1,60×10 ⁶ CFU/ml	+
<i>Streptococcus intermedius</i>	1,10×10 ⁶ CFU/ml	+
<i>Streptococcus mitis</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	+
<i>Streptococcus mutans</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	+
<i>Streptococcus oralis</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	+
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	+
<i>Streptococcus salivarius</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	+
<i>Streptococcus sanguis</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	+
<i>Treponema denticola</i>	1,63×10 ⁶ kopií/ml†	+
<i>Veillonella parvula</i>	2,13×10 ⁶ CFU/ml	+
<i>Yersinia enterocolitica</i>	1,25×10 ⁶ CFU/ml	+
Adenovirus typu 1	4,45×10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	+
Adenovirus typu 7	4,45×10 ⁴ TCID ₅₀ /ml	+
Cytomegalovirus	1,00×10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	+
Virus Epstein-Barrové	2,15×10 ⁵ kopií/ml	+
Virus hepatitidy B	5,00×10 ⁵ kopií/ml	+
Virus herpes simplex typu 1	2,80×10 ⁵ TCID ₅₀ /ml	+
Lidský papilloma virus typ 11	2,50×10 ⁵ kopií/ml	+
Lidský papilloma virus typ 6	2,50×10 ⁵ kopií/ml	+

† Testování bylo provedeno s genomovou DNA z důvodu obtížného množení těchto bakterií.

G. Interferenční látky

Test **cobas® Strep A** byl hodnocen s 28 látkami, které se mohou vyskytovat ve vzorcích výtěru z krku. Medicínsky anebo fyziologicky relevantní koncentrace potenciálních interferujících látek byly testovány v matrici výtěru z krku za přítomnosti a nepřítomnosti Strep A při $3 \times \text{LoD}$. Výsledky ukázaly, že žádná z testovaných látek s testem **cobas® Strep A** neinterferovala.

Potenciální interferující látka	Koncentrace	Výsledek Strep A	
		Strep A $3 \times \text{LoD}$	Negativní matrice
Acetaminofen (Tylenol)	100 µg/ml	+	–
Robitussin Peak Cold, Maximum Strength, Cough + Chest pro dospělé	5 % obj.	+	–
Robitussin Peak Cold, Nighttime, Multi-Symptom Cold pro dospělé	5 % obj.	+	–
Amoxicilin	25 µg/ml	+	–
Krev (lidská)	5 % obj.	+	–
Bromfeniramin maleát	60 ng/ml	+	–
Cepacol Sore Throat	5 mg/ml	+	–
Cepacol Ultra Sore Throat Spray	5 % obj.	+	–
Dimetapp Cold & Cough pro děti	5 % obj.	+	–
Robitussin Cough & Cold pro děti	5 % obj.	+	–
Dimetapp Nighttime Cold & Congestion pro děti	5 % obj.	+	–
Chloraseptic Max	5 % obj.	+	–
Chlorfeniramin maleát	25 ng/ml	+	–
Cool Mint Listerine, antiseptický přípravek	5 % obj.	+	–
Crest Pro-Health	5 % obj.	+	–
Dextrometorfan HBr	20 ng/ml	+	–
Difenhydramin HCl	350 ng/ml	+	–
Doxylamin sukcinát	300 ng/ml	+	–
Erytromycin	15 µg/ml	+	–
Guaifenesin (Guaiacol glyceryl)	5 mg/ml	+	–
Halls Mentholypus Cherry	5 mg/ml	+	–
Halls Mentholypus Sugar Free	5 mg/ml	+	–
Ibuprofen (Advil)	25 µg/ml	+	–
Mucin: hovězí podčelistní žláza, typ I–S	25 mg/ml [†]	+	–
Penicilin G	1,2 mg/ml	+	–
Sucrets Complete	5 mg/ml	+	–
Tussin Adult Chest Congestion	5 % obj.	+	–
Tylenol Cold Sore Throat	5 % obj.	+	–

[†] Za přítomnosti mucinu v koncentraci 25 mg/ml byla Ct Strep A zpožděna a fluorescence koncového bodu byla potlačena, ačkoli všechny vzorky Strep A $3 \times \text{LoD}$ byly detekovány jako pozitivní.

H. Studie osvobození od CLIA

V rámci prospektivní studie, jak je popsáno v části A výše, byla přesnost testu **cobas® Strep A** hodnocena na 5 pracovištích, která jsou osvobozena od CLIA. Studie se zúčastnilo celkem 17 neškolených pracovníků obsluhy, kteří reprezentovali zamýšlené pracovníky obsluhy pracovišť, která jsou osvobozena od CLIA. Míra výskytu neplatných výsledků byla 1,4 %.

Tato studie osvobození od CLIA prokázala, že citlivost testu byla 97,7 % (95% IS: 93,4 % až 99,2 %) a specifická testu byla 93,3 % (95% IS: 89,9 % až 95,6 %).

Krok A (5 pracovišť osvobozených od CLIA)		Srovnávací kultivace		
		Pozitivní	Negativní	Celkem
cobas® Liat®	Pozitivní	126	20 ^a	146
	Negativní	3 ^b	278	281
	Celkem	129	298	427

^a Z 20 vzorků pozitivních dle **cobas® Liat®** a negativních dle kultivace, bylo všech 20 vzorků dle PCR/sekvenování pozitivních na Strep A.

^b Ze 3 vzorků negativních dle **cobas® Liat®** a pozitivních dle kultivace, byly 3 vzorky dle PCR/sekvenování pozitivní na Strep A. Všechny 3 byly rovněž pozitivní po opakování testu **cobas® Liat®** za použití zbytkového vzorku po kultivaci.

	Č.	%	95% CI
Senzitivita	126 / 129	97,7 %	93,4–99,2 %
Specifická	278 / 298	93,3 %	89,9–95,6 %
Správnost	404 / 427	94,6 %	92,1–96,4 %
Rozšíření	129 / 427	30,2 %	26,1–34,7 %
PPV	126 / 146	86,3 %	79,8–91,0 %
NPV	278 / 281	98,9 %	96,9–99,6 %
Neplatný ^c	6 / 433	1,4 %	0,6–3,0 %

^c Míra zahrnuje všechny výsledky testu označené jako Neplatný, Nejednoznačný a Test přerušen. Ve všech případech přineslo opakované testování stejných vzorků platný výsledek.

Za účelem posouzení schopnosti zamýšlených pracovníků obsluhy pracovišť osvobozených od CLIA testovat slabě negativní a slabě pozitivní vzorky a získávat přesné výsledky byla provedena studie výkonnosti zařízení s koncentracemi analytů blízkými mezní hodnotě. Koncentrace slabě pozitivních a slabě negativních vzorků *Streptococcus pyogenes* ATCC# BAA-946 byly stanoveny pomocí dilučních studií provedených profesionálními pracovníky obsluhy pomocí metody srovnávací kultivace. Šedesát (60) slabě pozitivních a 60 slabě negativních vzorků bylo rovnoměrně rozděleno mezi 3 pracoviště osvobozená od CLIA a testováno zamýšlenými pracovníky obsluhy (2 na každé pracoviště) pomocí testu **cobas® Strep A**. Test **cobas® Strep A** poskytl výsledek „Strep A Detekováno“ u 100 % slabě pozitivních vzorků a výsledek „Strep A Nedetekováno“ u 100 % slabě negativních vzorků. Výsledky ukazují, že neškolení pracovníci obsluhy jsou schopni přesně provést test **cobas® Strep A** u vzorků, které obsahují nízkou koncentraci organismů *S. pyogenes*.

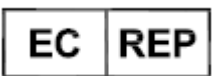
Úroveň vzorku	Neškolení zamýšlení pracovníci obsluhy používající test cobas® Liat®		
	Č.	% shody	95% CI
Slabě pozitivní*	60 / 60	100 %	94,0–100 %
Slabě negativní*	60 / 60	100 %	94,0–100 %

Očekávané výsledky pro slabě pozitivní vzorky byly „Strep A Detekováno“ a slabě negativní vzorky „Strep A Nedetekováno“.

* Pokyny pro průmysl a pracovníky Úřadu pro potraviny a léčiva Guidance for Industry and Food and Drug Administration Staff: Recommendations for Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988 (CLIA) Waiver Applications for Manufacturers of In Vitro Diagnostic Devices January 30, 2008.

S využitím analýzy rizik jako vodítka byly provedeny analytické studie flexibility. Studie prokázaly, že test není citlivý na zátěž způsobenou podmínkami prostředí a na možné chyby uživatele.

XII. Tabulka symbolů

Symbol	Používá se pro	Symbol	Používá se pro
	Čtěte návod k použití		Sériové číslo
	Zdravotnický prostředek pro <i>in vitro</i> diagnostiku		Datum expirace
	Omezení teploty		Kontrola
	Biologická rizika		Negativní kontrola
	Nepoužívat opakovaně		Pozitivní kontrola
	Obsah vystačí pro <n> testů		Zplnomocněný zástupce pro evropské společenství
	Katalogové číslo		Distributor
	Číslo šarže		Výrobce
	Globální číslo obchodní položky		Datum výroby
	Tento produkt odpovídá požadavkům směrnice 98/79/ES o diagnostických zdravotnických prostředcích <i>in vitro</i> .	Rx Only	Pouze pro USA: podle federálního zákona smí být tento prostředek prodáván pouze lékařem nebo na jeho objednávku.

XIII. Výrobce

Technická podpora

V případě jakýchkoli dotazů nebo problémů se obraťte na zástupce servisu společnosti Roche.

Problémy s testovacím systémem lze rovněž hlásit úřadu FDA prostřednictvím programu hlášení zdravotnických výrobků MedWatch (tel: 1-800-FDA-1088; fax: 1-800-FDA-0178; <http://www.fda.gov/medwatch>).

Ochranné známky a patenty

COBAS a LIAT jsou obchodní známky společnosti Roche.

Na test nukleových kyselin **cobas® Strep A** pro použití se systémem **cobas® Liat** se vztahují patenty USA č. 6 780 617; 6 964 862; 7 337 072; 7 718 421; 7 833 489; 7 799 521; 7 935 504; 8 936 933 a 9 005 551; odpovídající zahraniční patenty. Další patenty jsou v jednání.

Viz <http://www.roche-diagnostics.us/patents>

Autorská práva

©2019 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Roche Diagnostics (Schweiz) AG
Industriestrasse 7
6343 Rotkreuz, Switzerland

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Roche Diagnostics, SL
Avda. Generalitat, 171-173
E-08174 Sant Cugat del Vallès
Barcelona, Spain

Roche Diagnostica Brasil Ltda.
Av. Engenheiro Billings, 1729
Jaguará, Building 10
05321-010 São Paulo, SP Brazil

Roche Diagnostics
9115 Hague Road
Indianapolis, IN 46250-0457 USA
(For Technical Assistance call the
Roche Response Center
toll-free: 1-800-800-5973)

Roche Diagnostics
201, boulevard Armand-Frappier
H7V 4A2 Laval, Québec, Canada
(For Technical Assistance call:
Pour toute assistance technique,
appeler le: 1-877-273-3433)

Roche Diagnostics
2, Avenue du Vercors
38240 Meylan, France

Distributore in Italia:
Roche Diagnostics S.p.A.
Viale G. B. Stucchi 110
20052 Monza, Milano, Italy

Distribuidor em Portugal:
Roche Sistemas de Diagnósticos Lda.
Estrada Nacional, 249-1
2720-413 Amadora, Portugal



Roche Molecular Systems, Inc.
1080 US Highway 202 South
Branchburg, NJ 08876 USA
www.roche.com

XIV. Literatura

1. JF Cohen, et. al. Rapid antigen detection test for group A streptococcus in children with pharyngitis. Cochrane Database Syst Rev. 2016 Jul 4.

Poznámky