



# INSTRUÇÕES DE USO

## RADI COVID-19 Detection Kit

Dr. Carlos Eduardo Paula Leite Gouvêa  
Representante Legal

Dr. Mário Fudo  
Responsável Técnico



## Instruções de Uso

### RADI COVID-19 Detection Kit

#### 1. Uso pretendido

O **RADI COVID-19 Detection Kit** é um dispositivo médico de diagnóstico *in vitro*, baseado na tecnologia RT-PCR em tempo real que utiliza a reação de transcriptase reversa (RT) para converter RNA em DNA complementar (cDNA).

Destina-se à detecção qualitativa presuntiva de ácido nucleico do COVID-19 em amostras respiratórias superiores e inferiores.

O teste é de uso profissional por pessoal devidamente treinado na técnica PCR em tempo real em laboratório.

#### 2. Resumo e Explicação

O SARS-CoV-2, que é o agente causador da epidemia (COVID-19) foi relatado pela primeira vez em 31 de dezembro de 2019 na China, é um novo coronavírus beta. A infecção pelo COVID-19 causa sintomas respiratórios, febre, fadiga e em casos graves, pneumonia, síndrome respiratória aguda grave, falência de órgãos e até morte.

O **RADI COVID-19 Detection Kit** é um teste de diagnóstico *in vitro* molecular que auxilia na detecção e diagnóstico COVID-19 e baseado na tecnologia de amplificação de ácido nucleico amplamente utilizada.

#### 3. Componentes do Kit

##### Materiais Fornecidos (100 testes/kit)

Cor da tampa do tubo	Componente	Volume (µL)
Marrom	Primer & Probe Mixture	500
Amarelo	3X RT MasterMix	1,000
Vermelho	Controle positivo	300
Azul	Água Isenta de RNase	1,000

##### Materiais Necessários, mas não Fornecidos

- Micropipetas
- Ponteiras de pipeta com barreiras de filtro esterilizadas
- Centrífuga, misturador Vórtex
- Luvas descartáveis sem pó



- Equipamento PCR em tempo real
  - CFX 96 Sistema de detecção de PCR em tempo real, Bio-Rad
  - Sistema PCR em tempo real de Biosistemas Aplicados 7500, ThermoFisher
- Vidraria necessária para técnica RT-PCR

#### 4. Armazenamento

- Todos os componentes devem ser armazenados entre -25°C a -15°C no momento de seu recebimento.
- O tempo de exposição à temperatura ambiente não deve exceder a 30 minutos.

#### 5. Amostras

- Amostras respiratórias superiores e inferiores, “swabs” nasofaríngeos ou orofaríngeos e amostras de escarro.
- Siga as instruções de uso do fabricante do coletor de amostras de forma a realizar adequadamente a coleta.

#### 6. Extração

A qualidade do RNA extraído tem um impacto profundo no desempenho de todo o sistema do teste. É absolutamente necessário garantir que o sistema utilizado para extração de ácido nucleico seja compatível com a tecnologia PCR em tempo real. Recomenda-se kit reagente e os materiais descritos a seguir a ser utilizado em combinação com o **RADI COVID-19 Detection Kit** para a extração do ácido nucleico:

- a) RADI PREP Plus (Ref. KM001), KH Medical
- b) RADI PREP Swab e Stool DNA/RNA KIT (Ref. MP002), KH Medical
- c) QIAmp Viral RNA Mini Kit, Qiagen

#### 7. Protocolo PCR Mixture

Componente		Volume (µL)
Mistura PCR	3X RT MasterMix	10
	Primer & Probe Mix	5
RNA extraído, Controle Positivo, Controle Negativo		15
Volume total		30

(1) Pipetar 15µL dos reagentes acima (MasterMix) em cada poço, de acordo com a configuração de seu tubo de ensaio qPCR.

(2) Pipetar 15µL de RNA extraído, em cada poço, de acordo com a configuração de seu tubo de ensaio.



(3) Para o poço de controle positivo, adicionar 15µL de Controle Positivo.

(4) Para o poço de controle negativo, adicionar 15µL de Água Isenta de RNase.

### 8. Protocolo de amplificação PCR

Temperatura	Tempo	Ciclo
50°C	20 minutos	1
95°C	5 minutos	1
95°C	10 segundos	45
<b>55°C</b>	30 segundos	

\* Os dados fluorogênicos devem ser coletados durante esta etapa através dos canais FAM e VIC.

### 9. Detector de Fluorescência

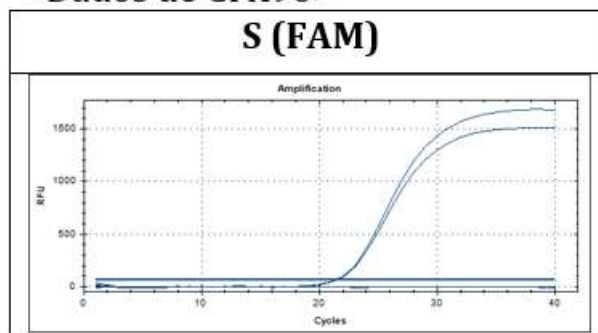
Alvo	Repórter
Gene S	FAM
Gene RdRP	VIC
IPC (Controle Interno)	ROX

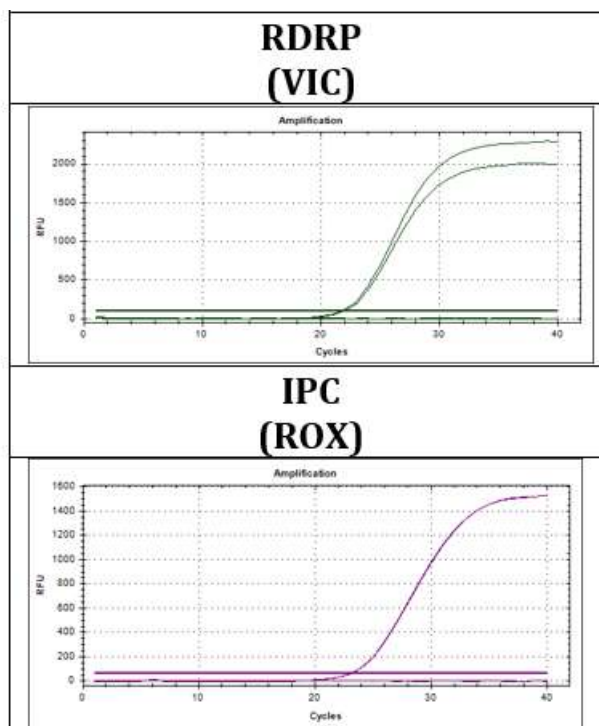
### 10. Precauções

1. Não utilizar o kit após a data de validade.
2. Este ensaio precisa ser realizado por pessoal qualificado e treinado.
3. Preparar rapidamente a mistura de reação sobre gelo ou sobre um bloco de resfriamento.
4. Antes de usar, verificar a integridade dos tubos de reagente e lembrar-se de montar as ponteiros de pipeta "spin" na posição apropriada.
5. Por favor, usar uma máscara e luvas descartáveis ao manusear os reagentes e amostras.
6. Utilizar sempre ponteiros de pipeta com filtro esterilizados.
7. Evitar o contato de olhos, pele e roupas com os reagentes. Em caso de qualquer contato, lavar com grandes volumes de água corrente.

### 11. Resultados

<Dados de CFX96>





O limiar é de 1/20 do delta máximo rn.

- O limiar pode ser configurado de forma diferente dependendo da máquina a ser usada.

## 12. Análise dos dados

Exemplo	Alvo			Resultado
	S (FAM)	RDRP (VIC)	IPC (ROX)	
1	≤40	≤40	≤40	Positivo
2	≤40	≤40	-	Positivo
3	≤40	-	≤40	Positivo
4	≤40	-	-	Positivo
5	-	≤40	≤40	Positivo
6	-	≤40	-	Positivo
7	-	-	≤40	Negativo
8	-	-	-	Inválido
9	40~45	40~45	≤40	Inválido
10	40~45	-	≤40	Inválido
11	-	40~45	≤40	Inválido

### 13. Características de desempenho

#### Sensibilidade analítica (Limite de Detecção)

Para testar a sensibilidade e o limite de detecção (LOD) do **RADI COVID-19 Detection Kit**, o RNA sintetizado por transcrição *in vitro* foi diluído para 4 concentrações e realizado 24 vezes para cada um.

O LOD (Limite de Detecção) é 0.66 cópias/ $\mu$ L.

Alvo	Cópias/ $\mu$ L	Ct média	Concordância dos resultados	Percentual de concordância
<b>Gene S</b>	1.66	37.62	24/24	100 %
	0.66	39.88	23/24	95.83 %
	0.5	40.18	24/24	100 %
	0.33	39.57	20/24	83.32 %
<b>Gene RdRP</b>	1.66	36.55	24/24	100 %
	0.66	38.06	23/24	95.83 %
	0.5	39.08	22/24	91.66 %
	0.33	38.47	21/24	87.49 %

#### Valor de Cut-Off

O limite de detecção foi estabelecido como valor de cut-off. O valor Ct de 40 foi estabelecido como sendo o cut-off do kit reagente **RADI COVID-19 Detection Kit**.

#### Reatividade cruzada

O kit reagente **RADI COVID-19 Detection Kit** não apresentou reatividade cruzada com nenhum dos patógenos a seguir:

	Não.	Patógenos de Reatividade Cruzada	Conc.
NCCP	14547	<i>Salmonella enteritidis</i>	75ng
NCCP	16207	<i>Salmonella typhimurium</i>	75ng
NCCP	15758	<i>Salmonella enterica</i>	75ng
NCCP	14641	<i>Salmonella typhi</i>	75ng
NCCP	13713	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	75ng
NCCP	12843	<i>Vibrio cholera</i>	75ng
NCCP	16296	<i>Bacillus cereus</i>	75ng
NCCP	16297	<i>Bacillus subtilis</i>	75ng
NCCP	15938	<i>Bacillus infantis</i>	75ng
NCCP	15871	<i>Staphylococcus aureus</i>	75ng
NCCP	14669	<i>Staphylococcus hominis</i>	75ng
NCCP	11192	<i>Campylobacter jejuni</i>	75ng
NCCP	14714	<i>Listeria monocytogenes</i>	75ng
NCCP	15661	<i>Escherichia coli</i>	75ng
NCCP	15911	<i>Clostridium perfringens</i>	75ng

NCCP	12713	<i>Yersinia enterocolitica</i>	75ng
NCCP	16366	<i>Clostridium tertium</i>	75ng
NCCP	11820	<i>Clostridium difficile</i>	75ng
NCCP	16330	<i>Salmonella Stanley</i>	75ng
NCCP	14708	<i>Parainfluenzae haemophilus</i>	75ng
NCCP	14675	<i>Hemofilo haemolyticus</i>	75ng
NCCP	14785	<i>Haemophilus influenzae</i>	75ng
NCCP	13753	<i>Neisseria meningitidis</i>	75ng
NCCP	15882	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	75ng
NCCP	43193	Adenovírus	52,5ng
NCCP	43248	Vírus da dengue	52,5ng
NCCP	43280	Zika vírus	52,5ng
NCCP	43132	Vírus chikungunya	52,5ng
NCCP	41308	Vírus da encefalite japonesa	52,5ng
NCCP	43165	Enterovirus	52,5ng
NIBSC	15/222	EBOV RNA NP-VP35-GP	52,5ng
NIBSC	06/202	HPV 16 DNA	52,5ng
NCCP	43281	Vírus vaccinia	75ng
NCCP	43214	Coronavírus humano NL63	75ng
NCCP	72002	<i>Legionella pneumophila</i>	52,5ng
NCCP	72026	<i>Coqueluche bordetella</i>	30ng
NCCP	72006	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	75ng
NCCP	72077	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	22,5ng
NCCP	72059	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	30ng
NCCP	43261	Vírus SFTS	52,5ng
NCCP	43108	Vírus Herpes Simplex 2	52,5ng
NCCP	43110	Vírus Herpes Simplex 1	52,5ng
NCCP	41003	Echovirus	52,5ng

### Reprodutibilidade

Quatro replicatas de três concentrações foram feitas por dois técnicos diferentes.

Cada teste foi repetido duas vezes com o kit reagente **RAVI COVID-19 Detection Kit**.

O valor médio do CT e CV (Coeficiente de Variação) foi calculado e todos os valores de CV ficaram abaixo de 2%.

Alvo	Concentrações	Média CI	Desvio-Padrão	CV
Gene S	LOD	38.32	0.71	1.84
	3x LOD	36.54	0.55	1.49
	5x LOD	35.75	0.46	1.28
Gene RdRP	LOD	37.61	0.66	1.74
	3x LOD	36.08	0.44	1.23
	5x LOD	35.10	0.24	0.69

### Repetibilidade

Para testar a repetibilidade do **RAVI COVID-19 Detection Kit**, o RNA sintetizado por transcrição *in vitro* foi diluído para três concentrações.

Os testes de três concentrações foram feitos em quatro replicatas durante 15 dias usando 3 lotes diferentes dos kits reagentes **RAVI COVID-19 Detection Kit**.

O valor médio do CT e CV de entre-lotes, entre-dias e o entre-ensaios foi calculado. Todos os valores de CV ficaram abaixo de 3%.

	Alvo	Concentração	Ct Médio	Desvio-Padrão	CV
Entre lotes	S gene	LOD	38.18	0.80	2.09
		3x LOD	36.25	0.44	1.22
		5x LOD	36.08	0.60	1.67
	RdRP gene	LOD	37.81	0.84	2.21
		3x LOD	35.78	0.30	0.84
		5x LOD	35.52	0.47	1.32

\*Média IPC Ct = 22,84











	Alvo	Concentração	Ct Médio	Desvio-Padrão	CV
Entre dias	Gene S	LOD	38.39	1.04	2.72
		3x LOD	36.39	0.55	1.52
		5x LOD	35.65	0.47	1.30
	Gene RdRP	LOD	37.61	0.83	2.21
		3x LOD	35.66	0.46	1.30
		5x LOD	34.92	0.48	1.37

\*Média IPC Ct: 22.77

	Alvo	Concentração	Ct Médio	Desvio-Padrão	CV
Entre-ensaios	Gene S	LOD	38.60	0.69	1.79
		3x LOD	36.50	0.51	1.40
		5x LOD	35.42	0.44	1.23
	Gene RdRP	LOD	37.97	1.12	2.95
		3x LOD	35.50	0.37	1.04
		5x LOD	34.66	0.37	1.08

\*Média IPC Ct: 22.67

### Descrição dos Símbolos Usados

Símbolo	Descrição	Símbolo	Descrição
	Número de catálogo		Consultar as instruções de uso
	Número do lote		Estocar entre -25°C a -15°C
	Prazo de validade		Fabricante
	Suficiente para <n> testes		Marca CE
	Dispositivo para diagnóstico in vitro		Representante autorizado na Comunidade Europeia





**Fabricante**

**KH MEDICAL CO.LTD.**

#C-1402, 947, Hanam-daero, Hanam-si  
Syeonggi-do

**CORÉIA DO SUL**

**Importador e Distribuidor**

**CMW SAÚDE E TECNOLOGIA IMPORTAÇÃO E EXPORTAÇÃO LTDA.**

Rua Simões Pinto, 65 – PARQUE JABAQUARA

CEP.04.356-100 – São Paulo – SP

**BRASIL**

CNPJ - 07.430.231/0001-84

USO EXCLUSIVO PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO  
ANTES DE UTILIZAR, LER AS INSTRUÇÕES DE USO PARA  
MODO DE USAR, PRECAUÇÕES E ADVERTENCIAS

REGISTRO MS

RESPONSÁVEL TÉCNICO – Dr. Mario Fudo – CRF-SP 9982

Lote:

Data de Validade:

**APROVADO PARA USO EMERGENCIAL**