

Primera evaluación del ensayo de aptitud pionero para todos los métodos de detección del SARS-CoV2

Rio de Janeiro, 09 de junio de 2020 - Brasil

Coordinación: Vinicius de Almeida Biasoli (Controllab). Participantes: Adriana de Oliveira Vieira (Controllab), Alvaro Pulchinelli (SBPC/ML y Laboratorio Fleury), Antonio Gomes Pinto Ferreira (Bio-Manguinhos/Fiocruz), Gustavo Barcelos Barra (Laboratorio Sabin), Jéssica dos Santos Gomes (Controllab), Klever V. Saenz-Flor (Laboratorio Synlab - Ecuador), Maria Elizabete Mendes (Laboratorio HC-USP), Rafael Monsores Lopes (Controllab), Shirley Maria Da Silva Lima (Controllab) y Wilson Shcolnik (Abramed y Laboratorio Fleury)

Palabras-clave: SARS-CoV2; RT-PCR, ANTÍGENO, SOROLOGÍA/INMUNOLOGIA, PRUEBA DE DIANÓSTICO RÁPIDO (TLR/POCT), PRUEBA RÁPIDA, ENSAYO DE APTITUD Y CONTROL DE CALIDAD EXTERNO.

INTRODUCCIÓN

Controllab, empresa que ofrece soluciones de control de calidad para laboratorios en diversos países, concluyó, en abril de 2020, un mes después de la declaración de la pandemia por parte de la Organización Mundial de la Salud (OMS), la producción y caracterización de materiales de control para el nuevo coronavirus (SARS-CoV2). Al mes siguiente, en asociación con la Sociedad Brasileña de Patología Clínica (SBPC/ML), se llevó a cabo el primer Ensayo de Aptitud (EP) brasileño, una iniciativa del proveedor Controllab, sin costo para el grupo de laboratorios que se registraron a través de las respuestas de una encuesta, mostrando interés en buenas prácticas de laboratorio recomendadas en estándares técnicos y regulatorios.

El Ensayo de Aptitud, también conocido como Control de Calidad Externo, o simplemente Control Externo, es una herramienta eficaz para determinar el rendimiento de la fase analítica del laboratorio. Combinado con el control interno y a una gestión comprometida con la calidad, promueve un conocimiento profundo de los procesos analíticos y garantiza la fiabilidad de los resultados.

Esta solución de control de calidad es ofrecida por Controllab de forma continua y periódica, consiste en evaluaciones de los resultados obtenidos por el laboratorio en el análisis de materiales desconocidos que simulan pacientes. Cada período de este programa es denominado por el proveedor como ronda. Dichas evaluaciones son el resultado de estudios estadísticos y análisis realizados por un grupo asesor, que señalan errores y posibles causas, aciertos y consideraciones sobre el desempeño global de los participantes. Los informes se ponen a disposición del laboratorio para verificar su rendimiento, identificar mejoras relacionadas con el sistema de ensayo, el equipo y el personal técnico.

Los programas de ensayo de aptitud ofrecidos para el coronavirus (SARS-CoV2) en esta primera ronda atienden:

- Pruebas moleculares que utilizan el método de técnica de reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa (RT-PCR), denominado en este documento como **Técnicas Moleculares**;

- Pruebas inmunológicas mediante el método de inmunoensayo enzimático, denominado en este documento como **Métodos Inmunológicos Automatizados**;
- Pruebas inmunológicas mediante el método de quimioluminiscencia (método automatizado), denominado en este documento como **métodos Inmunológicos Automatizados**;
- Pruebas inmunológicas realizadas por los métodos de inmunocromatografía e inmunoensayo de fluorescencia (FIA), también conocido como Test de Diagnóstico Rápido - TLR, prueba rápida o POCT (*Point-of-care testing*), denominado en este documento como **Test de Diagnóstico Rápido (TLR)**.

El día 29/05/2020, fue liberada la primera evaluación y contó con la participación de 124 laboratorios, entre los cuales algunos participaron en más de uno de los programas, informando así los resultados por diferentes metodologías. El porcentaje de participación por tipo de programa fue:

- 35,5% pruebas moleculares
- 7,3% pruebas inmunológicas por métodos automatizados
- 73,4% Tests de Diagnóstico Rápido (TLR)

Al final de la ronda, cada uno de los participantes (laboratorios) recibió su Informe de Evaluación Individual, un documento que contiene su desempeño para cada uno de los métodos reportados, y un documento llamado Perfil de Resultados, que agrupa los datos de la ronda y demuestra el desempeño de los sistemas, dentro de cada programa.

El propósito de este informe es presentar el desempeño de los sistemas analíticos reportados en esta ronda piloto para el ensayo de aptitud del coronavirus SARS-CoV2, incluyendo las consideraciones del grupo técnico-científico que propone este trabajo. Es importante resaltar que el Ensayo de Aptitud es parte del monitoreo analítico de los laboratorios junto al Control de Calidad Interno. Los resultados presentados aquí no sustituyen programas de validación de reactivos, cuyo objetivo es determinar la sensibilidad y especificidad de los kits y reactivos disponibles en el mercado.

ÍTEMS DE ENSAYO

Las muestras enviadas en el Ensayo de Aptitud son denominadas por el proveedor como "Ítems de Ensayo". Estos "Ítems", también conocidos como materiales de control, fueron escogidos por el proveedor, siguiendo un criterio de control de calidad:

Para la evaluación de pruebas moleculares.

Para las técnicas moleculares, se enviaron 2 (dos) ítems de suspensión celular liofilizada, uno "reactivo/detectable" y el otro "no reactivo/no detectable". Los ítems fueron preparados a partir del aislamiento viral, donde la replicación del virus se realizó a partir de una cepa viral de aislado clínico, en un sistema de cultivo celular usando células del linaje Vero y medio de cultivo *Dulbecco's Modified Eagle's Medium* (DMEM).

La secuencia del virus utilizada en la producción de la muestra de control considerada como "reactivo/detectable" está disponible en el repositorio público de GISAID con el número de acceso

hCoV-19/Brazil/DFBR-0001/2020. Esta muestra fue proporcionada por el Laboratorio Sabin Medicina Diagnóstica, de Brasilia, con el consentimiento del paciente para la donación.

Para la evaluación de pruebas inmunológicas.

Para los métodos inmunológicos, automatizados y TLR, se enviaron 3 (tres) ítems de donantes únicos, con el consentimiento de los pacientes para la donación, cuya recolección ocurrió más de 15 días después del inicio de los síntomas, y dos ítems de control desarrollados por Controllab . Todos los materiales de control se ofrecieron a los laboratorios participantes en forma liofilizada.

Es importante destacar que todo el proceso de preparación de los ítems siguió los criterios de Buenas Prácticas de Manufactura. La evaluación del ensayo de aptitud siguió los criterios de ABNT NBR ISO/IEC 17043, un estándar que Controllab está acreditado con INMETRO de acuerdo con PEP003. Estos ítems también se caracterizaron previamente por el Laboratorio de Ensayos de Controllab, también acreditado por INMETRO por ABNT NRB ISO/IEC 17025, según el alcance como CRL0586.

PRUEBAS MOLECULARES

En esta primera ronda, 41 laboratorios informaron sus resultados. A través de los reportes emitidos, fue posible observar una gran diversidad de modelos, sistemas y protocolos para el diagnóstico molecular, siendo la mayoría de ellos en el formato *in house*, un ensayo de diagnóstico validado por el propio laboratorio, utilizando insumos de diferentes fabricantes.

Es importante destacar que, de los 41 laboratorios que informaron haber utilizado la técnica molecular por RT-PCR, dos de ellos no informaron la técnica utilizada (*in house* o comercial) y, por lo tanto, no se incluyeron en el siguiente análisis estadístico.

Gráfico 01: Porcentaje de respuestas por Técnicas Moleculares

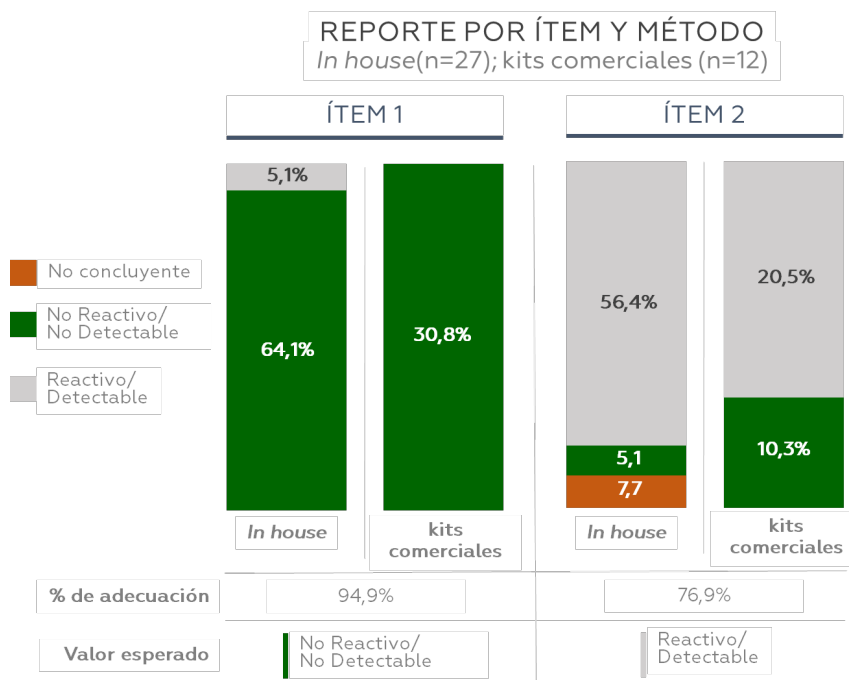


Gráfico 01: Porcentaje de respuestas para los ítems 1 y 2 evaluados en el programa de ensayo de aptitud en la ronda 01/2020, para reactivos utilizados por el método molecular por RT-PCR en casa y por kits comerciales.

Con respecto a los datos informados, podemos ver en el Gráfico 01 - elemento 1 - que el 5,1% de los resultados "falsos positivos" identificados en este elemento como "reactivo/detectable" fueron reportados por laboratorios que también utilizaron el método RT-PCR "in house", en tanto que el 10,3% de los "falsos negativos" fueron reportados en el ítem 2 por los laboratorios que usaron kits comerciales. Vale la pena señalar que la especificidad de los kits comerciales, al analizar los resultados en el ítem 1, fue del 100%, como también se destaca en el gráfico 03.

Ningún participante informó un resultado "no concluyente" para el ítem 1. El ítem 2 fue informado como "no concluyente" por el 7,7% de los participantes. Si bien la técnica molecular por RT-PCR en tiempo real se considera el *gold standard* para el diagnóstico de la infección por Coronavirus (Sars-Cov-2), es importante observar con precaución y atención al reporte de fallas de detección, que causan resultados "falsos negativos" (no reactivo/no detectable) en técnicas moleculares.

Para un mejor análisis del desempeño - y para ayudar en la investigación de las posibles causas de los resultados inadecuados de los datos informados por los laboratorios en el Ensayo de Aptitud - se puso a disposición el desempeño de los laboratorios de acuerdo con el conjunto analítico utilizado, detallando la clasificación del método (*in house* versus kit comercial), los "targets" genéticos investigados y el equipo de PCR en tiempo real utilizado en el proceso. Siempre considerando el resultado aceptado para el ítem 1 como "no reactivo/no detectable" y para el ítem 2 "reactivo/detectable".

Método RT-PCR (*in house*)

Este método fue reportado por 27 laboratorios, entre los 41 que utilizan técnicas moleculares. Es importante destacar que, entre los participantes, algunos no identificaron el sistema utilizado y por lo tanto, no formaron parte de esta estadística.

El ítem 1 presentó un porcentaje de adecuación del 92,6%, considerando el resultado aceptado como "no reactivo/no detectable", y el ítem 2 registró un porcentaje de adecuación del 81,5%, considerando el resultado aceptado como "reactivo/detectable". El porcentaje de adecuación muestra la cantidad de datos presentados dentro del valor esperado por el proveedor.

Se destaca que el ítem 2, el porcentaje del 11,1% de resultados no concluyentes y un mayor consenso de resultados "reactivo/detectable", en comparación con el rendimiento de los kits comerciales (Gráfico 3).

Gráfico 02: Porcentaje de respuestas por técnicas moleculares por el método RT-PCR (*in house*).

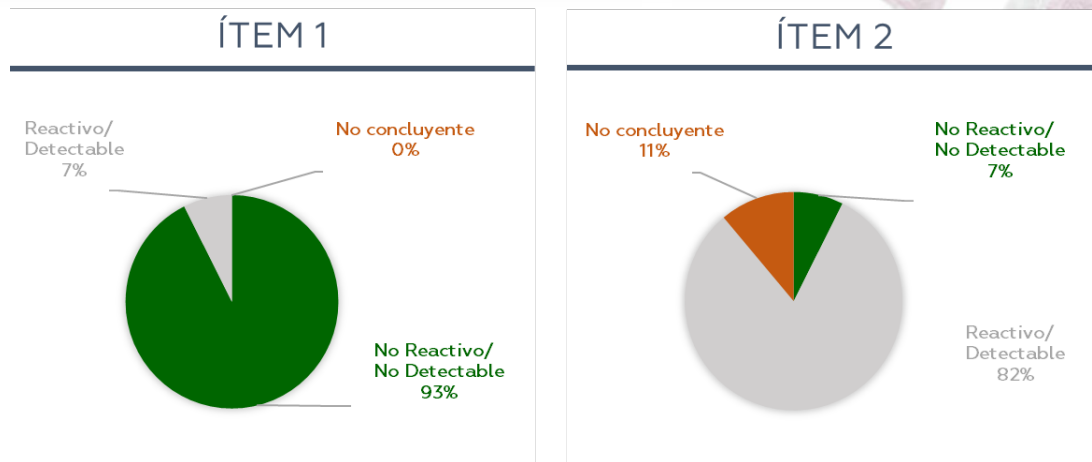


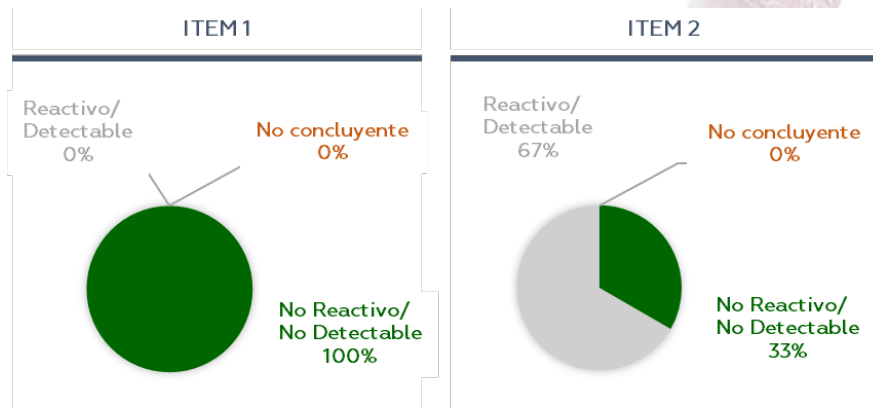
Gráfico 02: Porcentaje de respuestas para los ítems 1 y 2 evaluados en el programa de ensayo de aptitud del coronavirus SARS-CoV-2 en la ronda 01/2020. Solo se presentaron los laboratorios que informaron usar el método RT-PCR in house.

Método RT-PCR (kits comerciales)

Hubo cinco fabricantes diferentes presentados por los participantes.:

- Allplex: n= 4
- Cobas: n= 1
- HybriBio: n= 1
- XGEN: n= 4
- Xpert XExpress: n= 2

Gráfico 03: Porcentaje de respuestas por técnicas moleculares por el método RT-PCR (kits comerciales).



Kit	Cant.	ITEM 1			ITEM 2		
		No Reactivo/ No Detectable	Reactivo/ Detectable	No concluyente	No Reactivo/ No Detectable	Reactivo/ Detectable	No concluyente
Allplex - RT-PCR em Tempo Real	4	100,0%	-	-	50,0%	50,0%	-
Cobas - RT-PCR em Tempo Real	1	100,0%	-	-	-	100,0%	-
HybriBio - RT-PCR em Tempo Real	1	100,0%	-	-	100,0%	-	-
XGEN - RT-PCR em Tempo Real	4	100,0%	-	-	25,0%	75,0%	-
Xpert Xpress - RT-PCR em Tempo Real	2	100,0%	-	-	-	100,0%	-
Todos	12	100,0%	0,0%	0,0%	33,3%	66,7%	0,0%

Gráfico 03: Porcentaje de respuestas para los ítems 1 y 2 evaluados en el programa del ensayo de aptitud de coronavirus SARS-CoV-2 en la ronda 01/2020. Se lista solo los laboratorios que informaron el método RT-PCR en tiempo real con kits comerciales.

Como se muestra en el Gráfico 03, el porcentaje de adecuación del ítem 1 fue del 100%, es decir, todos ellos presentaron resultados "no reactivos/no detectables".

En el ítem 2, el nivel de acuerdo fue del 67% para los resultados "reactivo/detectable". Los participantes del programa deben investigar el 33% de los resultados inadecuados con un resultado "falso negativo", es decir, "no reactivo/no detectable".

"Target Genético"

A continuación, presentamos el desempeño de los laboratorios de acuerdo con el target genético utilizado en la investigación del virus SARS-Cov-2.

En la Tabla 01 los métodos se agruparon en base a aquellos que emplearon "targets" recomendados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) : E + N (1 o 2) + RDRP, donde 15 laboratorios los usaron y los otros objetivos, identificados como "Otros", reportado por 21 laboratorios.

Tabla 01: Porcentaje de respuestas por técnicas moleculares para el "target" genético sugerido por la OMS y Otros

Target Genético	Ítem 1 n (%)			Ítem 2 n (%)		
	No reactivo/ No detectable	Reactivo/ Detectable	No concluyente	No reactivo/ No detectable	Reactivo/ Detectable	No concluyente
(a) OMS	15 (100,0)	---	---	2 (13,3)	12 (80,0)	1 (6,7)
(b) Otros	19 (90,4)	2 (9,6) *	---	4 (19,1) **	15 (71,4)	2 (9,5)

Tabla 01: Cantidad y porcentaje de respuestas de ítems evaluados en el programa de ensayo de aptitud del coronavirus SARS-CoV-2 en la ronda 01/2020, separados por grupos de Target genético en: (a) sugerido por la OMS y (b) Otros conjuntos de objetivos informados.

* ORF1ab+N

** n=1 (E+RDRP) n=3 (ORF1ab+N)

Para el ítem 1, como se observa en la tabla 02, solo el conjunto de objetivos ORF1ab y N (n=2) presentaron resultados falsos positivos, es decir, "reactivo/detectable". Para el ítem 2, se observaron resultados falsos negativos, es decir, "no reactivo/no detectable" para los siguientes grupos objetivo genéticos: E y RdRp (n=1), E, N y RdRp (n=2), y ORF1ab y N (n=3). Vale la pena mencionar que algunos de los usuarios no informaron el "target" genético usado y por lo tanto no fueron incluidos en la lista.

Tabla 02: Porcentaje de respuestas por técnicas moleculares por el target genético.

Target Genético	Ítem 1 n (%)			Ítem 2 n (%)		
	No reactivo / No detectable	Reactivo/ Detectable	No concluyente	No reactivo / No detectable	Reactivo / Detectable	No concluyente
gen E	1 (100,0%)	-	-	-	1 (100,0%)	-
genes E y RdRp	1 (100,0%)	-	-	1 (100,0%)	-	-
genes E, N y RdRp	8 (100,0%)	-	-	2 (25,0%)	6 (75,0%)	-
genes N1 y N2	3 (100,0%)	-	-	-	2 (66,6%)	1 (33,4%)
genes N1, N2 y RdRp	7 (100,0%)	-	-	-	6 (85,7%)	1 (14,3%)
genes N2 y E	4 (100,0%)	-	-	-	4 (100,0%)	-
genes ORF1ab y E	1 (100,0%)	-	-	-	1 (100,0%)	-
genes ORF1ab y N	9 (81,8%)	2 (18,2%)	-	3 (27,3%)	7 (63,6%)	1 (9,1%)

Tabla 02: Número y porcentaje de respuestas para los ítems 1 y 2, en vista de los Targets genéticos informados en el programa de ensayo de aptitud del coronavirus SARS-CoV-2 en la ronda 01/2020.

Equipos

En la ronda 01/2020, se solicitó información sobre el equipo utilizado para la Amplificación/Detección. El gráfico 04 muestra el equipo utilizado según su porcentaje de participación. El sistema de Applied Biosystems con la serie 7300/7500 fue el más reportado, representado por el 21% de los encuestados.

Gráfico 04: Porcentaje de respuestas por técnicas moleculares por equipo.

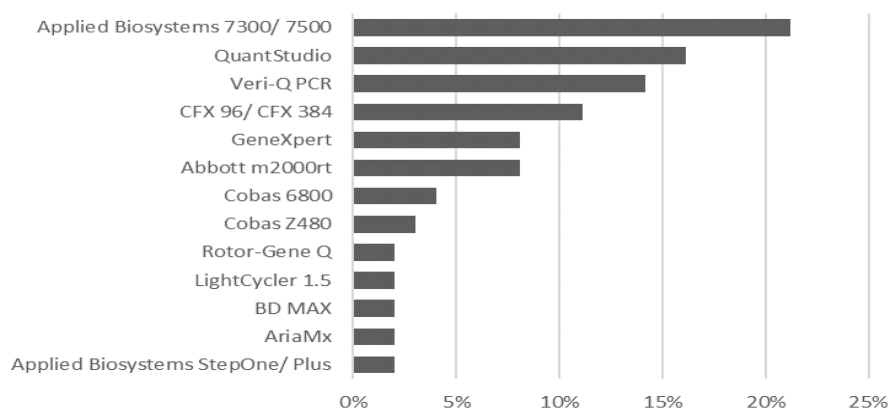


Gráfico 04: Porcentaje de respuestas del equipo de amplificación/detección informadas en el programa de ensayo de aptitud del coronavirus SARS-CoV-2 en la ronda 01/2020.

MÉTODOS INMUNOLÓGICOS

Para la evaluación de los métodos inmunológicos, se enviaron los mismos ítems de prueba, tanto para sistemas automatizados como para sistemas de Test de Diagnóstico Rápido (TLR).

Ítems de Ensayo

- **Ítems 01 y 02:** donante único que presentó RT-PCR positiva al comienzo de la infección y realizó una nueva recolección 25 días después del inicio de los síntomas.
- **Ítems 03:** Donante único que presentó RT-PCR positiva al comienzo de la infección y realizó una nueva recolección 15 días después del inicio de los síntomas.
- **Ítems 04 e 05:** material de control producido por Controllab, con elementos previamente caracterizados y manipulados.

Métodos inmunológicos automatizados

Los sistemas automatizados informados en esta ronda fueron representados por el método de quimioluminiscencia (Q) en el sistema MagLumi y por el método de inmunoensayo enzimático (EIA) en el sistema Euroimmun.

Método inmunoensayo enzimático (sistema Euroimmun)

Analizando los datos individualmente, podemos ver en la Tabla 03 que, para el sistema Euroimmun - EIA, tres laboratorios informaron SARS-Cov2 IgA (Part. A, Part. E, Part. F) y dos laboratorios informaron SARS-Cov2 IgG (Part. A, Part F), con valores positivos para todos los ítems, de acuerdo con el valor de referencia presentado en el inserto (Razón $\geq 1,1$). El participante A presentó resultados de relación más bajos para los 05 ítems, en relación con los otros que informaron IgA en este sistema. El participante E presentó un valor de la razón IgA muy superior para el ítem 2 en relación con los otros participantes de este inmunoensayo enzimático.

Para IgG en el ítem 2, se observó un valor más alto para el participante A.

Tabla 03: Resultados de métodos inmunológicos automatizados con datos individuales (Kit Euroimmum - EIA para IgA e IgG)

Razón	IgA					Razón	IgG				
	Ítem 1	Ítem 2	Ítem 3	Ítem 4	Ítem 5		Ítem 1	Ítem 2	Ítem 3	Ítem 4	Ítem 5
Part. A	7,79	7,16	6,95	6,70	8,63	Part. A	7,43	13,90	7,75	5,06	14,14
Part. E	12,53	33,65	9,70	9,53	10,72	Part. F	5,86	9,58	5,18	5,19	9,66
Part. F	13,14	12,41	8,77	11,74	13,86						

Tabla 03: Datos individuales (Razón) de los ítems enviados en el programa de ensayo de aptitud del Coronavirus SARS-CoV-2 en la ronda 01/2020, separados por laboratorio, ítem y ensayo. Datos representados por los kits Euroimmum - EIA IgA e IgG.

Método quimioluminiscencia (sistema MagLumi)

El sistema MagLumi utiliza el método de quimioluminiscencia y fue evaluado en el programa de forma cuantitativa. Según la tabla 04, para el anticuerpo IgG, el ítem 1 se trataba de un material negativo, siguiendo el valor de referencia proporcionado en el inserto del fabricante (AU/mL <1). A diferencia del sistema Euroimmum, que identificó el ítem como positivo. En los ítems 2, 4 y 5, los valores se consideraron positivos (AU/mL ≥1). Para el ítem 3, hubo una mayor variación analítica. El participante "Part. B" presentó un valor más alto que los otros usuarios, excepto para el ítem 1.

Estos datos se presentan a continuación:

Tabla 04: Resultados de métodos inmunológicos automatizados con datos individuales (Kit MagLumi IgG - Q)

AU/mL	IgG				
	Ítem 1	Ítem 2	Ítem 3	Ítem 4	Ítem 5
Part. A	0,12	10,87	0,65	1,89	18,97
Part. B	0,14	17,15	1,32	2,98	26,07
Part. C	0,09	13,57	0,65	1,92	25,25
Part. D	0,15	12,90	0,61	1,98	24,12
Media	0,13	13,62	0,81	2,19	23,60
DP	0,03	2,62	0,34	0,53	3,19
CV	21%	19%	42%	24%	14%

Tabla 04: Datos individuales (AU/mL) de los ítems enviados en el programa de ensayo de aptitud del coronavirus SARS-CoV-2 en la ronda 01/2020, separados por laboratorio, ítem y ensayo. Datos representados por el kit MagLumi IgG - Q

Para IgM en el sistema MagLumi, (tabla 05), los participantes tuvieron un consenso negativo para el ítem 4 y un consenso positivo para el ítem 3. En cuanto a los otros ítems (1, 2 y 5), se observaron valores por encima y por debajo del valor referencia proporcionado en el inserto del fabricante. El participante "Part. B" presentó valores más bajos para IgM en todos los ítems.

Tabla 05: Resultados de métodos inmunológicos automatizados con datos individuales (Kit MagLumi IgM - Q)

AU/mL	IgM				
	Ítem 1	Ítem 2	Ítem 3	Ítem 4	Ítem 5
Part. A	1,05	1,62	6,07	0,94	1,77
Part. B	0,26	0,94	4,28	0,54	0,92
Part. C	0,46	1,33	4,79	0,68	1,32
Part. D	0,77	1,57	5,32	0,82	1,87
Media	0,64	1,37	5,12	0,75	1,47
DP	0,35	0,31	0,77	0,17	0,44
CV	55%	23%	15%	23%	30%

Tabla 05: Datos individuales (AU/mL) de los ítems enviados en el programa de ensayo de aptitud del coronavirus SARS-CoV-2 en la ronda 01/2020, separados por laboratorio, ítem y ensayo. Datos representados por el kit MagLumi - Q IgM

Método inmunológico por Test de Diagnóstico Rápido (TLR)

Resultados reportados usando métodos inmunológicos por Test de Diagnóstico Rápido (TLR) 79 laboratorios. Se informaron 13 tipos diferentes, 11 fueron métodos de inmunocromatografía (IC) y 02 participantes utilizaron un método de inmunoensayo de fluorescencia (FIA).

El kit Celer one step COVID-19 test – Celer Biotecnologia SA evalúa las inmunoglobulinas totales. El resto evalúa anticuerpos IgG e IgM.

Gráfico 05: Porcentaje de respuestas por kit TLR informado en el Ensayo de Aptitud

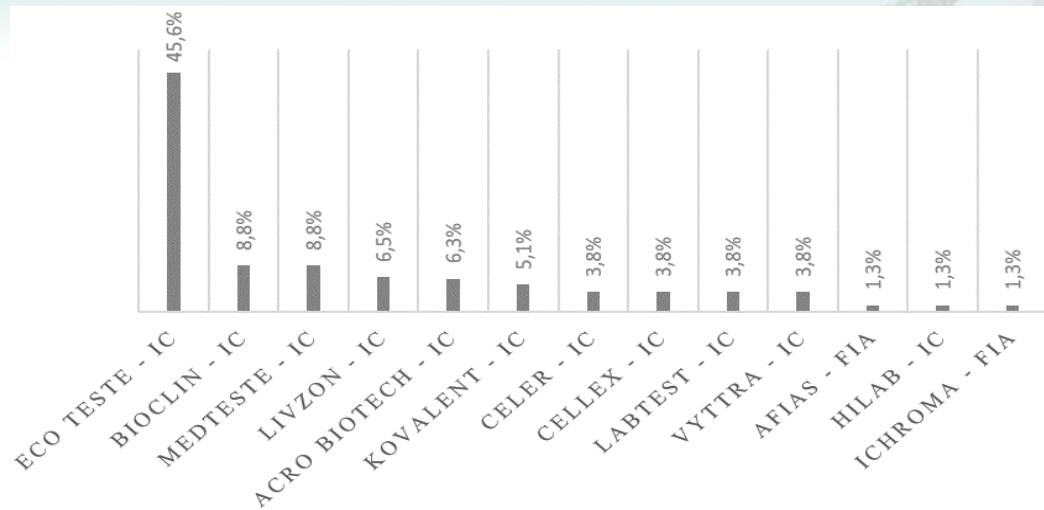


Gráfico 05: Porcentaje de respuestas de los kits TLR en el programa de ensayo de aptitud de coronavirus SARS-CoV-2 en la ronda 01/2020.

La mayoría de los participantes (63.2%) usa solo 03 marcas, siendo Eco Teste el más utilizado (45.6%), seguido de Bioclin (8.8%) y MedTeste (8.8%); Las otras 10 marcas oscilaron entre el 1.3% y el 6.5% de los participantes en esta ronda.

Teniendo en cuenta solo los elementos evaluados, a continuación, se muestra el rendimiento general de los kits de ueba de diagnóstico rápido en el ensayo de aptitud. Este porcentaje se calculó en función del número total de respuestas informadas por ellos para IgG, IgM y Total (IgG + IgM).

Gráfico 06: Porcentaje general de adecuación por kit TLR en el ensayo de aptitud

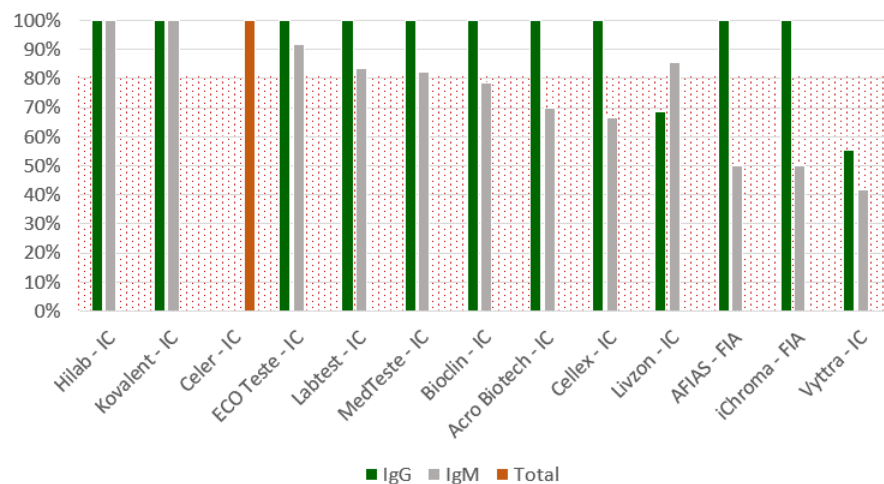


Gráfico 06: Porcentaje de idoneidad general de los kits en comparación con los elementos evaluados en el programa de ensayo de aptitud del coronavirus SARS-CoV-2 en la ronda 01/2020. Se destacó el rendimiento general por debajo del 80%.

Analizando el gráfico 06 y la tabla 06, se puede ver que la mayoría de los kits TLR mostraron un porcentaje de adecuación cercano o igual al 100% para IgG e IgM. Solo 02 fabricantes mostraron ajustes de IgG por debajo del 80%, sin embargo, para IgM seis se consideraron inadecuados, es decir, por debajo del 80%.

Tabla 06: Porcentaje general de adecuación por kit TLR en el ensayo de aptitud

Kit	IgG	IgM	Total
Hilab - IC	100%	100%	-
Kovalent - IC	100%	100%	-
Celer - IC	-	-	100%
ECO Teste - IC	100%	92%	-
Labtest - IC	100%	83%	-
MedTeste - IC	100%	82%	-
Bioclin - IC	100%	79%	-
Acro Biotech - IC	100%	70%	-
Cellex - IC	100%	67%	-
Livzon - IC	69%	86%	-
AFIAS - FIA	100%	50%	-
iChroma - FIA	100%	50%	-
Vyttra - IC	56%	42%	-

Tabla 06: Porcentaje de adecuación de los kits inmunológicos TLR, evaluados en el programa de ensayo de aptitud del coronavirus SARS-CoV-2 en la ronda 01/2020.

Es importante resaltar que los ítems "no evaluados" están relacionados con la falta de consenso de los kits "intra" y "entre", que se presentarán más adelante en el desempeño individual de los ítems de prueba. Por lo tanto, el porcentaje de adecuación de estos kits debe compararse con los elementos "no evaluados".

Al analizar el porcentaje de adecuación de los kits, también se debe observar su representatividad en el mercado frente a los usuarios que informaron sobre el programa de ensayos de aptitud.

Evaluación individual de los ítems, frente a métodos inmunológicos por Tests de Diagnóstico Rápido (TLR)

Ítem 1

Tabla 07: Porcentaje de respuestas por método inmunológico con el kit TLR (ítem 1)

KIT	Cant	IgG			IgM			Total		
		Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind
Acro Biotech - IC	5	20%	80%	-	100%	-	-	-	-	-
AFIAS - FIA	1	-	100%	-	100%	-	-	-	-	-
Bioclin - IC	7	-	100%	-	14%	86%	-	-	-	-
Cellex - IC	3	-	100%	-	100%	-	-	-	-	-
ECO Teste - IC	37	32%	68%	-	84%	16%	-	-	-	-
Hilab - IC	1	-	100%	-	100%	-	-	-	-	-
iChroma - FIA	1	-	100%	-	100%	-	-	-	-	-
Kovalent - IC	5	60%	40%	-	100%	-	-	-	-	-
Labtest - IC	3	-	100%	-	100%	-	-	-	-	-
Livzon - IC	6	83%	17%	-	100%	-	-	-	-	-
MedTeste - IC	7	-	100%	-	29%	71%	-	-	-	-
Vyttra - IC	3	100%	-	-	100%	-	-	-	-	-
Celer - IC	6	-	-	-	-	-	-	-	100%	-
Total General	79	30%	70%	0%	78%	22%	0%	0%	100%	0%
		No evaluado			Negativo			Negativo		

Tabla 07: Comportamiento de cada kit y anticuerpo reportado en el programa de ensayo de aptitud del Coronavirus SARS-CoV-2 en la ronda 01/2020, para el ítem 1. Este ítem fue un donante único, que presentó RT-PCR positiva al comienzo de la infección y se realizó una nueva recolección 25 días después del inicio de los síntomas.

Analizando la tabla 07, podemos ver que el consenso del 78% indicó que el ítem fue negativo para IgM. En los casos en que el informe fue positivo, utilizaron solo 3 marcas (Bioclin, Eco teste y Medteste). Para IgG, algunos kits no mostraron consenso, lo que resultó en un porcentaje aproximado del 30% que informaba negativo y el 70% que informaba positivo. Vale la pena señalar que algunos de estos kits no llegaron a un consenso dentro de su propio grupo. También se debe tener en cuenta que, para los días entre el inicio de los síntomas y la recolección, se esperaba un consenso "positivo" para la IgG. Debido a la presencia de un anticuerpo identificado por el 70% de los participantes que informaron IgG, el kit que informó "anticuerpos totales" se evaluó en contra de este consenso.

Ítem 2

Según la tabla 08, este ítem mostró un mayor consenso entre los kits que detectan el anticuerpo IgG, permitiendo su evaluación. Para el anticuerpo IgM, el consenso fue menor, lo que resultó en la no evaluación de este marcador en el Ensayo de Aptitud. Es de destacar que el tiempo entre el inicio de los síntomas y la recolección de material del paciente fue el mismo que en el ítem 1. Debido a la presencia de anticuerpos identificados por IgG en el consenso del ítem, el kit que reportó "anticuerpos totales" fue evaluado contra este consenso.

Tabla 08: Porcentaje de respuestas por método inmunológico con el kit TLR (ítem 2)

KIT	Cant	IgG			IgM			Total		
		Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Ne g	Pos	Ind
Acro Biotech - IC	5	-	100%	-	100%	-	-			
AFIAS - FIA	1	-	100%	-	100%	-	-			
Bioclin - IC	7	-	100%	-	0%	100%	-			
Cellex - IC	3	-	100%	-	33%	67%	-			
ECO Teste - IC	37	-	100%	-	43%	57%	-			
Hilab - IC	1	-	100%	-	100%	-	-			
iChroma - FIA	1	-	100%	-	100%	-	-			
Kovalent - IC	4	-	100%	-	50%	50%	-			
Labtest - IC	3	-	100%	-	100%	-	-			
Livzon - IC	6	17%	83%	-	50%	50%	-			
MedTeste - IC	7	-	100%	-	0%	100%	-			
Vyttra - IC	3	67%	33%	-	100%	-	-			
Celer - IC	6							-	100%	-
Total General	78	4%	96%	0%	46%	54%	0%	0%	100%	0%
			Positivo			No Evaluado			Positivo	

Tabla 08: Comportamiento de cada kit y anticuerpo informado en el programa de ensayo de aptitud del coronavirus SARS-CoV-2 en la ronda 01/2020, para el ítem 2. Este ítem fue un donante único, que presentó RT-PCR positiva al comienzo de la infección y se realizó una nueva recolección 25 días después del inicio de los síntomas.

Ítem 3

Con respecto al tiempo más corto (días después del inicio de los síntomas) en relación con los ítems 1 y 2, este ítem no fue evaluado para IgG. Como el porcentaje de positividad entre IgG e IgM fue cercano, este período todavía muestra la transición entre la caída de IgM y el aumento de IgG, estando cerca de la sensibilidad entre los sistemas. Por la presencia de anticuerpos identificados por IgM, el kit que reportó "anticuerpos totales" fue evaluado contra este consenso.

También se debe tener en cuenta que, para los días entre el inicio de los síntomas y la recolección, se esperaba un consenso "positivo" para IgG.

Tabla 09: Porcentaje de respuestas por método inmunológico con el kit TLR (ítem 3)

KIT	Cant	IgG			IgM			Total		
		Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Ne g	Pos	Ind
Acro Biotech - IC	5	-	100%	-	80%	20%	-			
AFIAS - FIA	1	-	100%	-	100%	-	-			
Bioclin - IC	7	-	100%	-	-	100%	-			
Cellex - IC	3	100%	-	-	-	100%	-			
ECO Teste - IC	36	22%	78%	-	19%	81%	-			
Hilab - IC	1	-	100%	-	-	100%	-			
iChroma - FIA	1	-	100%	-	100%	-	-			
Kovalent - IC	4	100%	-	-	-	100%	-			
Labtest - IC	3	-	100%	-	67%	33%	-			
Livzon - IC	5	20%	80%	-	-	100%	-			
MedTeste - IC	7	29%	71%	-	-	100%	-			
Vyttra - IC	3	100%	-	-	100%	-	-			
Celer - IC	6							-	100%	-
Total General	76							0%	100%	0%
		No Evaluado			Positivo			Positivo		

Tabla 09: Comportamiento de cada kit y anticuerpo informado en el programa de ensayo de aptitud del coronavirus SARS-CoV-2 en la ronda 01/2020, para el ítem 3. Este ítem fue un donante único, que presentó RT-PCR positiva al comienzo de la infección y se realizó una nueva recolección 15 días después del inicio de los síntomas.

Ítem 4

Para este ítem, el consenso fue mayor entre los marcadores, permitiendo su evaluación tanto para IgG como para IgM, y el kit que informa el ensayo como Total. Aun así, como se señaló en los ítems anteriores, algunos kits no mostraron consenso entre sus usuarios.

Tabla 10: Porcentaje de respuestas por método inmunológico con el kit TLR (ítem 4)

KIT	Cant.	IgG			IgM			Total		
		Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind
Acro Biotech - IC	5	-	100%	-	20%	80%	-			
AFIAS - FIA	1	-	100%	-	-	-	100%			
Bioclin - IC	7	-	100%	-	-	100%	-			
Cellex - IC	3	-	100%	-	100%	-	-			
ECO Teste - IC	36	3%	97%	-	-	100%	-			
Hilab - IC	1	-	100%	-	-	100%	-			
iChroma - FIA	1	-	100%	-	-	-	100%			
Kovalent - IC	4	-	100%	-	-	100%	-			
Labtest - IC	3	-	100%	-	-	100%	-			
Livzon - IC	5	60%	20%	20%	60%	40%	-			
MedTeste - IC	7	-	100%	-	-	100%	-			
Vyttra - IC	3	-	100%	-	33%	67%	-			
Celer - IC	6							-	100%	-
Total General	76	5%	93%	0%	11%	87%	0%	0%	100%	0%
			Positivo			Positivo			Positivo	

Tabla 10: Comportamiento de cada kit y anticuerpo informado en el programa de ensayo de aptitud del coronavirus SARS-CoV-2 en la ronda 01/2020, para el ítem 4. Este ítem fue un donante único, que presentó RT-PCR positiva al comienzo de la infección y se realizó una nueva recolección 25 días después del inicio de los síntomas.

Ítem 5

Para este ítem, el consenso fue mayor entre los marcadores, permitiendo su evaluación tanto para IgG como para IgM, y el kit que informa el ensayo como Total. Incluso obteniendo un mayor porcentaje de adecuación, algunos kits no mostraron consenso entre sus usuarios.

Tabla 11: Porcentaje de respuestas por elemento del kit TLR 5

KIT	Cant	IgG			IgM			Total		
		Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind
Acro Biotech - IC	5	-	100%	-	20%	80%	-			
AFIAS - FIA	1	-	100%	-	-	100%	-			
Bioclin - IC	7	-	100%	-	-	100%	-			
Cellex - IC	3	-	100%	-	33%	67%	-			
ECO Teste - IC	36	-	100%	-	-	100%	-			
Hilab - IC	1	-	100%	-	-	100%	-			
iChroma - FIA	1	-	100%	-	-	100%	-			
Kovalent - IC	4	-	100%	-	-	100%	-			
Labtest - IC	3	-	100%	-	-	100%	-			
Livzon - IC	5	-	100%	-	-	100%	-			
MedTeste - IC	7	-	100%	-	-	100%	-			
Vyttra - IC	3	67%	33%	-	100%	-	-			
Celer - IC	6							-	100%	-
Total General	76	3%	97%	0%	7%	93%	0%	0%	100%	0%
			Positivo			Positivo			Positivo	

Tabla 11: Comportamiento de cada kit y anticuerpo reportado en el programa de ensayo de aptitud del Coronavirus SARS-CoV-2 en la ronda 01/2020, para el ítem 5. Este ítem fue un donante único, que presentó RT-PCR positiva al comienzo de la infección y se realizó una nueva recolección 25 días después del inicio de los síntomas.

Conclusión

Técnicas Moleculares

Fue posible observar diversidad de "targets" moleculares empleados para la amplificación y detección, por cuanto incluso con las recomendaciones de organizaciones internacionales, como la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización Panamericana de la Salud (OPS), no hay consenso científico con aquellos con el mejor rendimiento y efectividad. Esta situación era esperada en una enfermedad nueva (COVID-19), que sorprendió a la humanidad y al sector sanitario en particular.

Con respecto a los resultados inadecuados existen varias razones, que van desde fallas técnicas en los procedimientos de laboratorio, que pueden en este caso la necesidad de capacitación del personal en el área técnica y la posible necesidad de revisión del proceso - incluida la calidad de los insumos y kits utilizados y debido al mal desempeño del equipo involucrado - hasta los diferentes "targets" de detección y criterios de aceptación/límites de CT (Umbral de ciclo) a considerar.

Se recomienda que cada laboratorio analice individualmente su desempeño y utilice la información provista por el proveedor con el desempeño general del mercado (documentos del Perfil de Resultados y este informe) para evaluar el desempeño del sistema analítico en el programa de Ensayo de Aptitud.

También es importante que estos usuarios busquen el uso continuo de material de control de calidad interno, para validar diariamente sus rutinas y eliminar cualquier interferencia que refleje negativamente la confiabilidad de los resultados del paciente.

Métodos Inmunológicos

Métodos inmunológicos automatizados: Como los ensayos de aptitud se ofrecieron al principio de la pandemia, los sistemas automatizados todavía no se ofrecían en grandes cantidades en el mercado y esto explica una menor participación de estos sistemas analíticos en el programa. Se espera que, en la próxima ronda, en junio de 2020, haya un mayor número de participantes, lo que permitirá presentar el comportamiento de más sistemas analíticos disponibles en el mercado nacional.

Los laboratorios que usaron estos sistemas analíticos deben verificar el comportamiento de sus datos en relación con los otros participantes que usaron el mismo sistema (datos individuales: tablas 3 a 5), buscando identificar oportunidades para mejoras tales como la calibración y la estandarización de la rutina en relación con lo que se recomienda por el fabricante y, en consecuencia, minimizar la variación de los datos.

La diferencia en la interpretación entre los sistemas dentro del mismo ítem como "positivo" o "negativo" se analizará mejor con la entrada de nuevos miembros y sistemas en el ensayo de aptitud.

Métodos inmunológicos por Test de Diagnóstico Rápido (TLR): Estos métodos tuvieron un mayor número de participantes y con diferentes fabricantes, lo que permitió un análisis estadístico más sólido entre los sistemas informados.

Para este método de análisis, algunos ítems/anticuerpos no se evaluaron en el programa del ensayo de aptitud debido a la falta de consenso entre los kits "intra" y "entre", lo que resultó en un mayor porcentaje de adecuación de los kits que se muestran en el Gráfico 6 y tabla 6. Cabe señalar, en este caso, que estos "no evaluados" fueron donantes individuales, más de 15 días después del comienzo de su infección, confirmado por RT-PCR, lo que demuestra en este caso la falta de estandarización de sensibilidad entre kits y quizás entre sus lotes.

Por la falta de consenso dentro del mismo kit, se sugiere que los usuarios verifiquen la forma en que realizan sus análisis en relación con el procedimiento indicado por el fabricante. También es importante comentar que, en el Anexo 1, el consenso de estos kits se verifica en relación con los lotes informados, lo que puede indicar, para algunos de ellos, un posible cambio en la sensibilidad entre los lotes.

Tal comportamiento resalta la necesidad de que los fabricantes e importadores validen sus kits con materiales de referencia y también monitoreen continuamente la sensibilidad entre lotes de kits que estarán disponibles para el mercado. También es importante destacar la responsabilidad de los laboratorios de llevar a cabo la validación del kit tan pronto como se implante y realizar un análisis simple entre lotes y envíos con materiales de referencia/control.

Debido a la gran cantidad de fallas en los informes de resultados para esta metodología, aprovechamos la oportunidad para solicitar a los laboratorios, que contribuyeron a este informe, que realicen un análisis crítico de sus resultados, buscando seleccionar cuidadosamente los proveedores de conjuntos diagnósticos. Ciertamente, se deben tomar todas las demás precauciones con respecto a los procedimientos técnicos; Como ejemplo, sugerimos que las buenas prácticas sean objeto de atención y revisión permanente.

Controllab se comprometió con esta causa y ya tiene un control de calidad interno para todas las metodologías. La compañía también ofrece los servicios de Panel de Desempeño y Validación lote a lote, que pueden ser utilizados por fabricantes/proveedores de kits y también por laboratorios..

Ya está establecida una nueva fecha para la segunda ronda del Ensayo de Aptitud del Coronavirus del SARS-CoV-2: el próximo 15/06/2020.

También destacamos algunas páginas que están divulgando su análisis con respecto a las pruebas de sensibilidad y especificidad de los kits. Uno de ellos es el sitio web de ANVISA <http://portal.anvisa.gov.br>, que divulga los análisis anteriores realizados por INCQS (<https://www.incqs.fiocruz.br>); y el otro sitio es el enlace <https://www.testecovid19.org/>, una iniciativa de varias entidades del sector del laboratorio unidas en el programa para la evaluación de kits de diagnóstico para Covid-19.

Agradecimientos

Aquí está registrado nuestro agradecimiento a:

- ✓ Los laboratorios que se unieron a la iniciativa, participaron y se comprometieron con la credibilidad y la calidad de sus informes, apoyando el diagnóstico de SARS-CoV2 con información confiable. Los datos fueron fundamentales para demostrar al mercado el rendimiento de los sistemas analíticos utilizados.
- ✓ La junta y el personal del Laboratorio Sabin, destacaron al Dr. Gustavo Barcelos Barra, a la Dra. Ticiane Henriques Santa Rita, al Dr. Pedro Goes Mesquita y al Dr. Rafael Henriques Jácomo, por su asociación y donación de material de Biología Molecular.

Anexo 1

A continuación, se enumeran los kits y lotes, respectivamente, informados en el ensayo de aptitud. Las columnas resaltadas con "↓" representan los resultados aceptados en el ensayo de aptitud. Los elementos que no tienen esta marca no han sido evaluados. Es importante resaltar que los lotes se presentan informados por los usuarios del programa del Ensayo de Aptitud.

Comportamiento entre lotes

Acro Biotech - IC	1			2			3			4			5		
	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind
IgG					↓						↓				↓
NCP20030273	1	2			3			3			3			3	
NCP20030323		1			1			1			1			1	
NPC20030287		1			1			1			1			1	
IgM		↓						↓			↓				↓
20030323	1			1				1		1				1	
NCP20030273	3			3			3				3			3	
NPC20030287	1			1			1				1		1		

AFIAS - FIA	1			2			3			4			5		
	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind
IgG					↓						↓				↓
WHQDA11G		1			1			1			1			1	
IgM		↓						↓			↓				↓
WHQDA11G	1			1			1				1			1	

Bioclin - IC	1			2			3			4			5		
	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind
IgG					↓						↓				↓
5		2			2			2			2			2	
6		2			2			2			2			2	
7		1			1			1			1			1	
8		2			2			2			2			2	
IgM		↓						↓			↓				↓
5		2			2			2			2			2	
6		2			2			2			2			2	
7		1			1			1			1			1	
8	1	1			2			2			2			2	

Celer - IC	1			2			3			4			5		
	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind
Total		↓			↓			↓			↓				↓
W195		1			1			1			1			1	
W19500329		1			1			1			1			1	
W19500335		1			1			1			1			1	
W19500337		1			1			1			1			1	
W19500417		1			1			1			1			1	

Cellex - IC	1			2			3			4			5		
	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind
IgG					↓						↓				↓
20200404W15513C-					↓						↓				↓
3		2			2		2				2			2	
20200406W15513C-					↓						↓				↓
3		1			1		1				1			1	
IgM		↓						↓			↓				↓
20200404W15513C-		↓						↓			↓				↓
3	2				2			2		2			1	1	
20200406W15513C-		↓						↓			↓				↓
3	1			1				1		1				1	

Comportamiento entre lotes

ECO Teste - IC	1			2			3			4			5		
	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind
IgG					↓						↓			↓	
202004011	3	2			5		1	4		1	4			5	
202004012		1			1			1			1			1	
202004013	2				2		1	1			2			2	
202004015	1				1		1				1			1	
202005003	1				1			1			1			1	
202005004		1			1			1			1			1	
202005007	1	1			2			2			2			2	
202005009	1	3			4		1	3			4			4	
202005012	1				1		1				1			1	
202005015		1			1			1			1			1	
202005016		1			1			1			1			1	
202005017		1			1										
202005019	1	13			14		2	12			14			14	
202005026		1			1			1			1			1	
202004019P	1				1		1				1			1	

IgM	↓							↓			↓			↓	
202004011	5			2	3		2	3			5			5	
202004012	1			1			1				1			1	
202004013	2			1	1		1	1			2			2	
202004015	1			1			1				1			1	
202005003	1			1			1				1			1	
202005004	1				1		1				1			1	
202005007	2			2				2			2			2	
202005009	4			2	2			4			4			4	
202005012	1			1				1			1			1	
202005015	1			1				1			1			1	
202005016	1				1			1			1			1	
202005017	1			1				1			1			1	
202005019	8	6		2	12			14			14			14	
202005026	1				1			1			1			1	
202004019P	1			1				1			1			1	

Hilab - IC	1			2			3			4			5		
	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind
IgG					↓						↓			↓	
COV3D200513		1			1			1			1			1	
IgM	↓							↓			↓			↓	
COV3D200513	1			1				1			1			1	

iChroma - FIA	1			2			3			4			5		
	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind
IgG					↓						↓			↓	
whqda50		1			1			1			1			1	
IgM	↓							↓			↓			↓	
whqda50	1			1			1				1	1		1	

Kovalent - IC	1			2			3			4			5		
	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind
IgG					↓						↓			↓	
11877207		1			1		1				1			1	
11877202	1				1		1				1			1	
11877206	1				1		1				1			1	
11879202	1	1			1		1				1			1	
IgM	↓							↓			↓			↓	
11877207	1				1			1			1			1	
11877202	1			1				1			1			1	
11877206	1				1			1			1			1	
11879202	2			1				1			1			1	

Comportamiento entre lotes

Labtest - IC	1			2			3			4			5		
	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind
IgG					↓						↓				↓
2630695		2			2			2			2			2	
2630965		1			1			1			1			1	

IgM		↓						↓			↓			↓	
2630695	2			2			2	1			2			2	
2630965	1			1				1			1			1	

Livzon - IC	1			2			3			4			5		
	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind
IgG					↓						↓				↓
CK2003030410	3	1		1	3			3		2	1			3	
CK2003070410	1				1		1			1				1	
CK2003090410	1				1			1				1		1	

IgM		↓						↓			↓			↓	
CK2003030410	4			1	3			3		2	1			3	
CK2003070410	1			1				1		1				1	
CK2003090410	1			1				1			1			1	

MedTeste - IC	1			2			3			4			5		
	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind
IgG					↓						↓				↓
COV20030060		5			5		1	4			5			5	
COV20030081		2			2		1	1			2			2	

IgM		↓						↓			↓			↓	
COV20030060	1	4			5			5			5			5	
COV20030081	1	1			2			2			2			2	

Vyttra - IC	1			2			3			4			5		
	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind
IgG					↓						↓				↓
2004313	2			2	1		2				2		2	1	
FJN29201	1				1		1				1			1	

IgM		↓						↓			↓			↓	
2004313	2			2			2				2		2		
FJN29201	1			1			1			1			1		

Anexo 2

A continuación, listamos los laboratorios que permitieron llevar a cabo este trabajo y ponerlo a disposición del mercado. Era necesario tener agilidad para incorporar este ensayo de aptitud en las rutinas analíticas y los laboratorios se esforzaron por demostrar su compromiso con la confiabilidad de sus datos, participando en el programa.

Tabla 12: Lista de los laboratorios participantes

BAHIA (4)

- Hospital Santa Izabel - Santa Casa de Misericórdia da Bahia
- Instituto Análise de Pesquisas Clínicas
- Labchecap - Laboratórios de Análises Clínicas
- Laboratório Análise - Instituto Análise de Pesquisas Clínicas

CEARÁ (3)

- DASA - Laboratório Hospital Unimed CE
- Labluz - Instituto da Primeira Infância - IPREDE
- LACEN CE

DISTRITO FEDERAL (3)

- DASA - Hospital Brasília - DF
- Instituto Hospital de Base do Distrito Federal - IHBDF
- Laboratório Sabin de Análises Clínicas

ESPÍRITO SANTO (1)

- Hospital UNIMED Sul Capixaba

GOIÁS (1)

- Laboratório INGOH - Instituto Goiano de Oncologia e Hematologia

MARANHÃO (2)

- Laboratório Gaspar
- Rede Sarah de Hospitais de Neuroreabilitação - Unidade São Luís – MA

MINAS GERAIS (22)

- Check-Up Laboratório de Análises Clínicas
- Fundação Ezequiel Dias

- GMN Nefrolab
- Hematologia e Patologia Clínica Souza Assunção
- Hospital Mater Dei
- Hospital Unimed - Campo Grande MS Cooperativa de Trabalho Médico
- I9MED LABORATÓRIO TESTES RÁPIDOS
- Instituto de Análises Clínicas Carlos Chagas
- Instituto Hermes Pardini
- José Alair Couto Laboratório de Análises Clínicas
- Laboratório Cortes Villela Ltda
- Laboratório da UPA Barreiro
- Laboratório de Patologia Clínica Hospital Márcio Cunha - Unidade I
- Laboratório Distrital Norte/Venda Nova
- Laboratório Monte Sinai
- Laboratório Santa Lúcia
- Laborclínica Análises e Pesquisas Clínicas
- Lab-Rede - Laboratório de Referência em Diagnósticos Especializados
- Lamel - Laboratório Médico Especializado
- Quibasa - Bioclin
- Santa Casa de Misericórdia de Juiz de Fora - Laboratório Análises Clínicas
- Tecsa - Laboratórios

PARÁ (1)

- Laboratório Central do Estado do Pará

PERNAMBUCO (1)

- Marcelo Magalhães Diagnósticos

PIAUI (1)

- Bioanálise

PARANÁ (10)

- DB - Diagnósticos do Brasil
- DASA - Frischmann Aisengart Medicina Diagnóstica
- Hi Technologies Ltda
- Hospital Infantil Pequeno Príncipe
- Hospital Nossa Senhora das Graças - Laboratório Análises Clínicas
- LABMED - Laboratório Médico de Londrina
- Laboratório de Patologia Bom Jesus
- Laboratório Pasteur
- Unimed Curitiba Participações S/A
- Unimed de Londrina Cooperativa de Trabalho Médico

SÃO PAULO (28)

- Associação Fundo de Incentivo à Pesquisa
- Biomega Medicina Diagnóstica
- Centro de Genomas
- CIPAX Medicina Diagnóstica
- Cura Centro de Ultrassonografia e Radiologia
- DB Diagnósticos do Brasil
- DASA - Laboratório Central Alphaville
- Fleury Centro de Medicina Diagnóstica
- Fundação Faculdade Regional de Medicina
- Hemodiag Laboratório de Análises Clínicas
- Hospital Santa Cruz
- Hospital Santa Joana
- Hospital São Camilo - Ipiranga
- Instituto de Análises Clínicas de Santos
- Instituto de Assistência Médica ao Servidor Público Estadual.
- Laboratório Central de Patologia Clínica do Hospital das Clínicas FMRP USP
- Laboratório Central do Hospital São Paulo
- Laboratório de Análises Clínicas Unimed São Roque
- Laboratório Lemelab de Análises Clínicas
- Laboratório São Francisco
- Laboratório Unimed - Santa Barbara d'Oeste e Americana Participações
- LABVIVALLE
- PBS Pesquisas e Serviços Biomédicos
- Senne Líquor Diagnóstico

- Serviço Social da Indústria e da Construção Civil do Estado de São Paulo - SECONCI
- Sociedade Campineira de Educação Instrução
- UNIMED São José do Rio Preto Cooperativa de Trabalho Médico
- Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP - Divisão de Patologia Clínica/HC

RIO DE JANEIRO (7)

- Centro de medicina Nuclear da Guanabara
- Contraprova Doping e Toxicologia
- DASA - Rio de Janeiro
- Hospital dos Servidores do Estado
- Laboratório de Histocompatibilidade e Criopreservação HLA-UERJ
- Laboratório Richet
- Controllab

RONDÔNIA (1)

- Laboratório Unimed Vilhena

RIO GRANDE DO SUL (6)

- Aspeur - Associação Pró Ensino Superior em Novo Hamburgo
- Laboratório Amplicon
- Laboratório de Análises Clínicas Carlos Franco Voegeli
- Serviço de Diagnóstico Laboratorial - Hospital de Clínicas de Porto Alegre
- Sociedade Dr. Bartholomeu Tacchini
- Unimed POA - Laboratório Cachoeirinha

SANTA CATARINA (5)

- Laboratório Biomédico - Laboratório de Pesquisas Clínicas e Bromatológicas
- Laboratório de Análises Clínicas Dr. Willy Carlos Jung
- Laboratório de Análises Clínicas Unimed Litoral
- Laboratório Médico Santa Luzia
- Laboratório Santa Isabel de Análises Clínicas

SERGIPE (1)

- CEMISE - Centro de Medicina Integrada de Sergipe

TOCANTINS (1)

- PHD Laboratório Clínico

INTERNACIONAL (2)

- Ecuador: Synlab Sociedad Anónima
- Portugal: Laboratório Fernanda Galo Lda