

Primeira avaliação de ensaio de proficiência pioneiro para todos os métodos de detecção do SARS-CoV2

Rio de Janeiro, 09 de junho de 2020 - Brasil

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

Palavras-chave: SARS-CoV2; RT-PCR, ANTÍGENO, SOROLOGIA/ IMUNOLOGIA, TESTE LABORATORIAL REMOTO (TLR/ POCT), TESTE RÁPIDO, ENSAIO DE PROFICIÊNCIA E CONTROLE DE QUALIDADE EXTERNO.

INTRODUÇÃO

A Controllab, empresa que oferece soluções para controle de qualidade para laboratórios de diversos países, concluiu, em abril de 2020, um mês após a declaração da pandemia pela Organização Mundial da Saúde (OMS), a produção e a caracterização dos materiais de controle para o novo coronavírus (SARS-CoV2). No mês seguinte, em parceria com a Sociedade Brasileira de Patologia Clínica (SBPC/ML), realizou o primeiro Ensaio de Proficiência (EP) brasileiro, uma iniciativa do provedor Controllab, sem custos para o grupo de laboratórios que se registraram por meio de respostas a uma enquete, demonstrando interesse nas boas práticas laboratoriais recomendadas em normativas técnicas e regulatórias.

O Ensaio de Proficiência, também conhecido como Controle de Qualidade Externo, ou simplesmente Controle Externo, é uma ferramenta eficaz para determinar o desempenho da fase analítica do laboratório. Aliado ao controle interno e a uma gestão comprometida com a qualidade, promove um profundo conhecimento dos processos de análise e garante a confiabilidade dos seus resultados.

Essa solução de controle de qualidade é oferecida pela Controllab de forma contínua e periódica, constituída por avaliações de resultados obtidos pelo laboratório na análise de materiais desconhecidos que simulam pacientes. Cada período desse programa é denominado pelo provedor como rodada. Tais avaliações resultam de estudos estatísticos e análises de um grupo assessor, que apontam erros e possíveis causas, acertos e considerações sobre o desempenho global dos participantes. Relatórios são disponibilizados para o laboratório verificar seu desempenho, identificar melhorias relacionadas a sistemática de ensaio, equipamentos e corpo técnico.

Os programas de ensaio de proficiência oferecidos para coronavírus (SARS-CoV2) nessa primeira rodada atendem:

- Testes moleculares pelo método de técnica de reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa (RT-PCR), denominado nesse documento como **Técnicas Moleculares**;
- Testes Imunológicos pelo método Enzimaimunoensaio, denominado nesse documento como métodos **Imunológicos Automatizados**;
- Testes Imunológicos pelo método de Quimioluminescência (método automatizado), denominado nesse documento como métodos **Imunológicos Automatizados**;

- Testes Imunológicos pelos métodos Imunocromatográficos e Imunoensaio de Fluorescência (FIA), também conhecido como Teste Laboratorial Remoto – TLR, Teste rápido ou POCT (*Point-of-care testing*), denominado nesse documento como método **Teste Laboratorial Remoto (TLR)**.

No dia 29/5/2020 a 1ª avaliação foi liberada e contou com a participação de 124 laboratórios, entre os quais alguns participaram de mais de um dos programas, reportando, assim, resultados por diferentes metodologias. Desta forma, as participações ocorreram da seguinte forma:

- 35,5% com testes moleculares
- 7,3% com testes imunológicos por métodos automatizados
- 73,4% com testes imunológicos por Testes Laboratoriais Remotos (TLR)

Ao final da rodada, cada um dos participantes (laboratórios) recebeu o seu Relatório de Avaliação Individual, documento contendo o seu desempenho para cada um dos métodos reportados, e um documento denominado Perfil de Resultados, que agrupa os dados da rodada e demonstra o desempenho geral dos sistemas, dentro de cada programa.

O intuito desse conteúdo é apresentar o desempenho dos sistemas analíticos reportados nesta rodada piloto para o ensaio de proficiência de coronavírus SARS-CoV2, incluindo considerações do grupo técnico-científico proponente desse trabalho.

Importante destacar que o Ensaio de Proficiência faz parte do monitoramento analítico dos laboratórios junto ao Controle de Qualidade Interno. Os resultados aqui apresentados não podem ser substituídos por programas de validação de reagentes, que visam apurar a sensibilidade e especificidade de kits e reagentes disponíveis no mercado.

ITENS DE ENSAIO

As amostras enviadas no Ensaio de Proficiência são denominadas pelo provedor “Itens de ensaio”. Esses “itens”, também conhecidos como materiais de controle, foram escolhidos previamente pelo provedor, seguindo um critério de controle de qualidade, no qual se definiu para esse envio:

Para avaliação de testes moleculares

Para técnicas moleculares foram enviados 2 (dois) itens de suspensão celular liofilizada, sendo um “reagente/detectável” e outro “não reagente/ não detectável”. Os itens foram preparados de um isolamento viral, onde a replicação do vírus foi realizada a partir de uma cepa viral de isolado clínico, em um sistema de cultura celular utilizando células de linhagem Vero e meio de cultura Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM).

A sequência do vírus usado na produção da amostra controle considerada como “reagente/detectável” está disponível no repositório público GISAID com o número de acesso hCoV-19/Brazil/DFBR-0001/2020. Essa amostra foi fornecida pelo Laboratório Sabin Medicina Diagnóstica, de Brasília, com o consentimento do paciente pela doação.

Para avaliação de testes imunológicos

Para os métodos imunológicos, automatizados e TLR, foram enviados 3 (três) itens de doadores únicos, com o consentimento dos pacientes pela doação, cuja coleta ocorreu com mais de 15 dias após o início dos sintomas, e dois itens de controle desenvolvidos pela Controllab. Todos os materiais de controle foram oferecidos aos laboratórios participantes sob a forma liofilizada.

Importante destacar ainda que todo o processo de preparação dos itens seguiu os critérios de Boas Práticas de Fabricação. A avaliação do Ensaio de Proficiência seguiu os critérios da ABNT NBR ISO/IEC 17043, norma a qual a Controllab é acreditada junto ao INMETRO conforme o PEP003. Esses itens também foram previamente caracterizados pelo Laboratório de Ensaio da Controllab, acreditado também pelo INMETRO pela ABNT NBR ISO/IEC 17025, conforme o escopo como CRL0586.

TESTES MOLECULARES

Nesta primeira rodada, 41 laboratórios reportaram seus resultados e, pelas informações enviadas, foi possível observar uma grande diversidade de modelos, sistemas e protocolos de diagnóstico molecular, sendo a maioria no formato *in house*, ensaio diagnóstico validado pelo próprio laboratório, utilizando insumos de diferentes fabricantes ou não para aplicação da técnica molecular.

Importante destacar que, dos 41 laboratórios que reportaram pela técnica molecular por RT-PCR, dois deles não informaram a técnica utilizada (*in house* ou kit comercial) e, por isso, não foram apresentados na análise estatística a seguir.

Gráfico 01: Percentual de respostas por Técnicas Moleculares

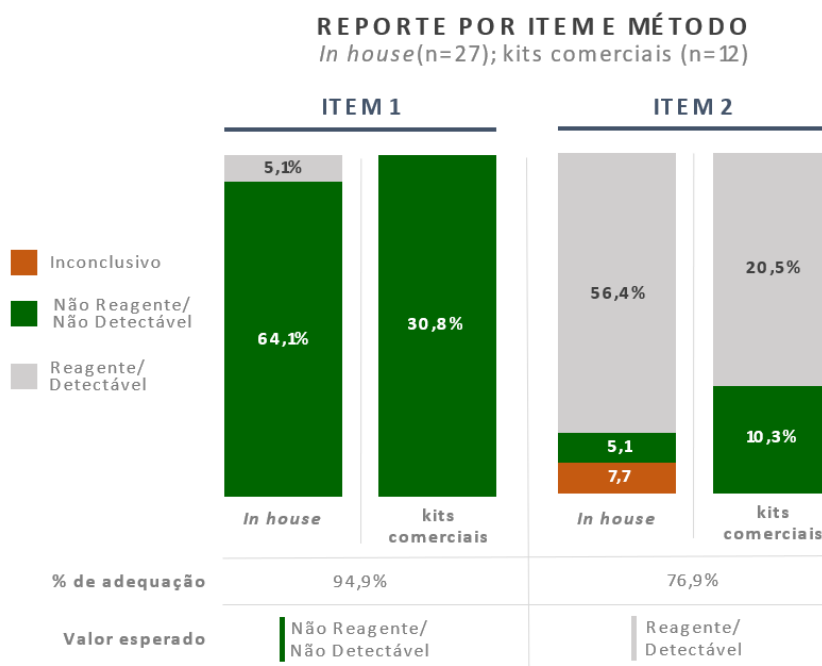


Gráfico 01: Percentual de respostas para os itens 1 e 2 avaliados no programa de ensaio de proficiência na rodada 01/2020, para reativos utilizados pelo método moleculares por RT-PCR *in house* e por kits comerciais.

Em relação aos dados reportados, podemos observar no Gráfico 01 – item 1 - que 5,1% dos resultados “falsos positivos” identificados nesse item como “reagente/detectável” foram reportados por laboratórios que utilizaram o método RT-PCR *in house*, bem como 10,3% dos “falsos negativos” foram reportados no item 2 pelos laboratórios que utilizaram kits comerciais reportando valores como “Não reagente/não detectável”. Vale destacar ainda que a especificidade dos kits comerciais, ao analisar os resultados no item 1, foi de 100% conforme destacado também no gráfico 03.

Nenhum participante reportou resultado “inconclusivo” para o item 1. Já o item 2 foi reportado como “inconclusivo” por 7,7% dos participantes. Mesmo a técnica molecular por RT-PCR em Tempo Real sendo considerado gold

standard para o diagnóstico da infecção pelo Coronavírus (Sars-Cov-2), é importante observar com cautela e atenção o reporte de falhas de detecção, ocasionando resultados “falsos negativos” (não reagente/ não detectável) nas técnicas moleculares.

Para melhor análise do desempenho - e para ajudar na investigação das possíveis causas para os resultados inadequados dos dados reportados pelos laboratórios no Ensaio de Proficiência - foi disponibilizado a seguir o desempenho dos laboratórios conforme o conjunto analítico utilizado, detalhando a classificação do método (*in house* versus kit comercial), os alvos genéticos pesquisados e os equipamentos de PCR em tempo real utilizados no processo. Sempre considerando resultado aceito para o item 1 como “não reagente/não detectável” e para o item 2 “reagente/ detectável”.

Método RT-PCR (*in house*)

Este método foi reportado por 27 laboratórios, entre os 41 que utilizam técnicas moleculares. Importante ressaltar que, entre os participantes, alguns não identificaram o sistema utilizado e por isso não fizeram parte dessa estatística.

O item 1 apresentou um percentual de adequação de 92,6%, considerando-se o resultado aceito como “não reagente/não detectável”, e o item 2 registrou um percentual de adequação de 81,5%, considerando-se o resultado aceito como “reagente/detectável”. O percentual de adequação demonstra a quantidade de dados que se apresentou dentro do valor esperado pelo provedor.

Destaca-se ainda no item 2, o percentual de 11,1% de resultados inconclusivos e um consenso de resultados “reagente/ detectável” maior, quando comparado com o desempenho dos kits comerciais (Gráfico 3).

Gráfico 02: Percentual de respostas por técnicas moleculares pelo método RT-PCR (*in house*).

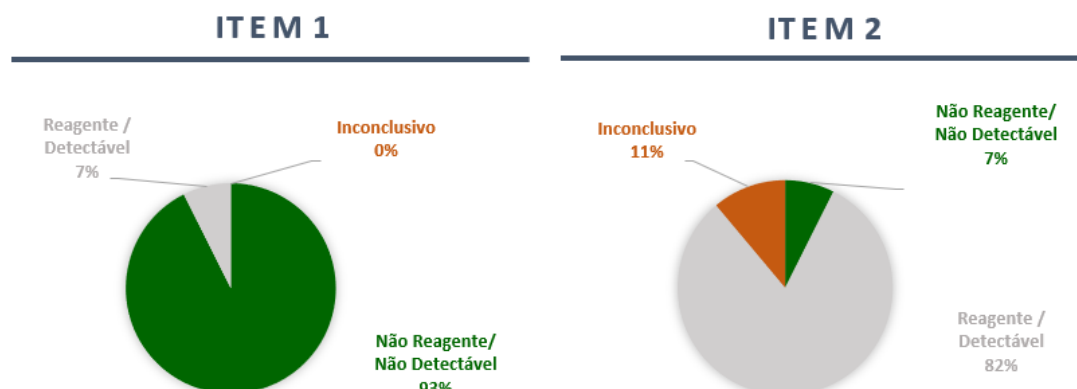


Gráfico 02: Percentual de respostas para os itens 1 e 2 avaliados no programa de ensaio de proficiência de Coronavírus SARS-CoV-2 na rodada 01/2020. Apresentado apenas os laboratórios que informaram utilizar o método RT-PCR *in house*.

Método RT-PCR (kits comerciais)

Foram cinco diferentes fabricantes apresentados pelos participantes:

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

Gráfico 03: Percentual de respostas por técnicas moleculares pelo método RT-PCR (kits comerciais).

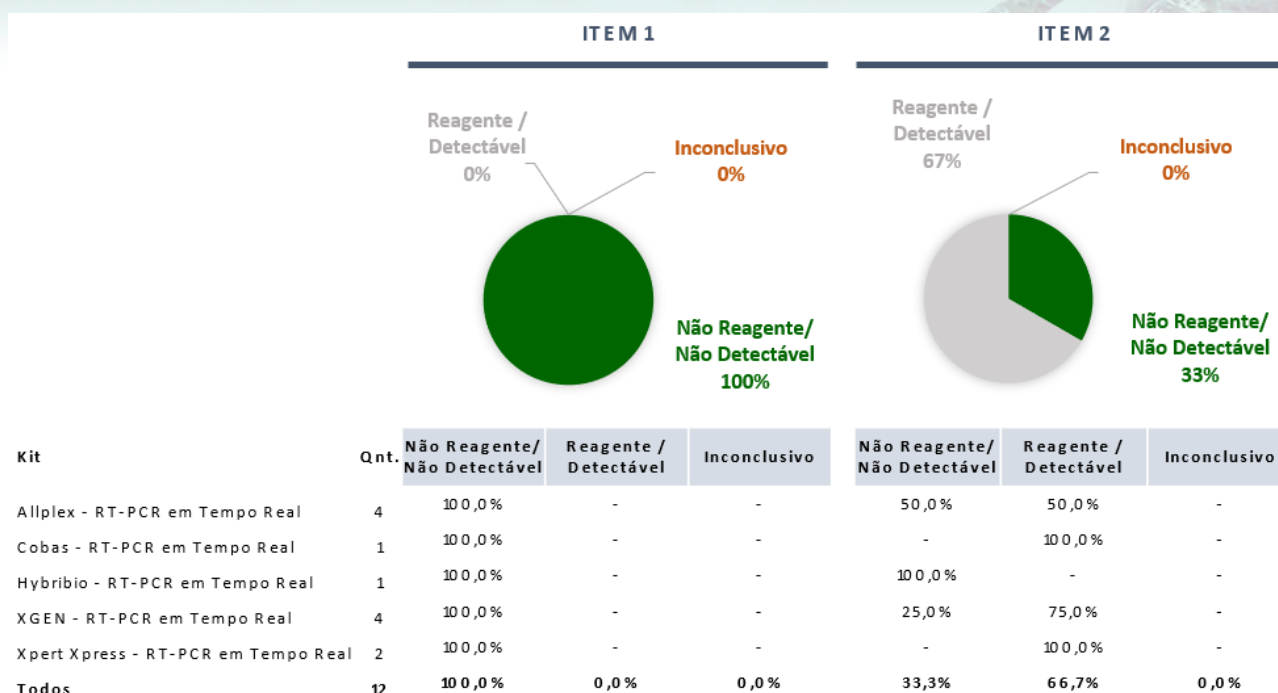


Gráfico 03: Percentual de respostas para os itens 1 e 2 avaliados no programa de ensaio de proficiência de Coronavírus SARS-CoV-2 na rodada 01/2020. Listado apenas os laboratórios que reportaram método RT-PCR com kits comerciais.

Conforme demonstrado no gráfico 03, o percentual de adequação do item 1 foi de 100%, ou seja, todos apresentaram resultados “não reagente/ não detectável”.

No item 2 o nível de concordância foi de 67% para os resultados “reagente/ detectável”. Os 33% de resultados inadequados com resultado “falso negativo”, ou seja, “não reagente/não detectável”, necessitam ser investigados pelos participantes do programa.

Alvo Genético

Apresentamos a seguir, o desempenho dos laboratórios conforme o alvo genético utilizado na pesquisa do vírus da COVID-19. Foram disponibilizadas duas tabelas, na tabela 01 separou-se entre os alvos recomendados pela Organização Mundial da Saúde (OMS) com os alvos genéticos (E+N (1 ou 2) + RDRP) onde 15 laboratórios reportaram por eles e os demais alvos, identificado na tabela 01 como “Outros”, reportado por 21 laboratórios.

Tabela 01: Percentual de respostas por técnicas moleculares pelo alvo genético sugerido pela OMS x Outros

Alvo Genético	Item 1 n (%)			Item 2 n (%)		
	Não reagente/ Não detectável	Reagente/ Detectável	Inconclusivo	Não reagente/ Não detectável	Reagente/ Detectável	Inconclusivo
(a) OMS	15 (100,0)	---	---	2 (13,3)	12 (80,0)	1 (6,7)
(b) Outros	19 (90,4)	2 (9,6) *	---	4 (19,1) **	15 (71,4)	2 (9,5)

Tabela 01: Quantidade e o percentual de respostas dos itens avaliados no programa de ensaio de proficiência de Coronavírus SARS-CoV-2 na rodada 01/2020, separado por grupos de alvo genético em: (a) sugerido pela OMS e (b) Outros conjuntos de alvo reportados.

* ORF1ab+N

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

Para o item 1, conforme observado na tabela 02, apenas o conjunto de alvos ORF1ab e N (n=2) apresentou resultados falsos positivos, ou seja, “reagente/detectável”. Para o item 2, resultados falsos negativos, ou seja, “não reagente/não detectável” foram observados para os seguintes grupos de alvo genéticos: E e RdRp (n=1), E, N e RdRp (n=2), e ORF1ab e N (n=3). Vale destacar que alguns dos usuários não reportaram informação sobre o alvo genético e por isso, não foram listados.

Tabela 02: Percentual de respostas por técnicas moleculares pelo alvo genético

Alvo Genético	Item 1 n (%)			Item 2 n (%)		
	Não reagente/ Não detectável	Reagente/ Detectável	Inconclusivo	Não reagente/ Não detectável	Reagente/ Detectável	Inconclusivo
gene E	1 (100,0%)	-	-	-	1 (100,0%)	-
genes E e RdRp	1 (100,0%)	-	-	1 (100,0%)	-	-
genes E, N e RdRp	8 (100,0%)	-	-	2 (25,0%)	6 (75,0%)	-
genes N1 e N2	3 (100,0%)	-	-	-	2 (66,6%)	1 (33,4%)
genes N1, N2 e RdRp	7 (100,0%)	-	-	-	6 (85,7%)	1 (14,3%)
genes N2 e E	4 (100,0%)	-	-	-	4 (100,0%)	-
genes ORF1ab e E	1 (100,0%)	-	-	-	1 (100,0%)	-
genes ORF1ab e N	9 (81,8%)	2 (18,2%)	-	3 (27,3%)	7 (63,6%)	1 (9,1%)

Tabela 02: Quantidade e o percentual de respostas para os itens 1 e 2, frente os alvos genéticos reportados no programa de ensaio de proficiência de Coronavírus SARS-CoV-2 na rodada 01/2020.

Equipamentos

Na rodada 01/2020, foram solicitadas informações sobre os equipamentos utilizados para Amplificação/ Detecção. O gráfico 04 apresenta os equipamentos utilizados conforme o seu percentual de participação. O sistema Applied Biosystems com as séries 7300/ 7500 foi o mais reportado, representado por 21% dos respondentes.

Gráfico 04: Percentual de respostas por técnicas moleculares por equipamento

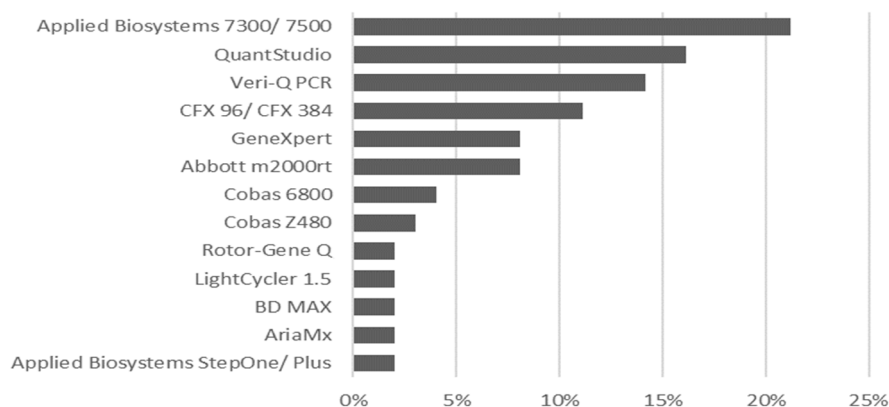


Gráfico 04: Percentual de respostas dos equipamentos de amplificação/ detecção reportados no programa de ensaio de proficiência de Coronavírus SARS-CoV-2 na rodada 01/2020.

MÉTODOS IMUNOLÓGICOS

Para a avaliação dos métodos imunológicos, foram enviados os mesmos itens de ensaio, tanto para sistemas automatizados quanto para os sistemas de Teste Laboratorial Remoto (TLR).

Itens de ensaio

- **Itens 01 e 02:** doador único que apresentou RT-PCR positivo no início da infecção e realizou uma nova coleta 25 dias após o início dos sintomas.

- **Itens 03:** doador único que apresentou RT-PCR positivo no início da infecção e realizou uma nova coleta 15 dias após o início dos sintomas.
- **Itens 04 e 05:** material de controle produzido pela Controllab, com itens previamente caracterizados e manipulados.

Métodos imunológicos automatizados

Os sistemas automatizados reportados nessa rodada foram representados pelo método de quimioluminescência (Q) no sistema MagLumi e pelo método de enzimaímunoensaio (EIA) no sistema Euroimmun.

Método enzimaímunoensaio (sistema Euroimmun)

Analisando os dados de forma individual observamos na tabela 03 que, para o sistema Euroimmun - EIA, três laboratórios reportaram SARS-Cov2 IgA (Part. A, Part. E, Part. F) e dois laboratórios reportaram SARS-Cov2 IgG (Part. A, Part. F), com valores positivos para todos os itens, conforme o valor de referência apresentado na bula do kit (Razão $\geq 1,1$).

O Participante A apresentou resultados inferiores de Razão para os 05 itens, em relação aos outros que reportaram IgA neste sistema. O participante E apresentou um valor da Razão de IgA muito superior para item 2 em relação aos demais participantes deste enzimaímunoensaio.

Para IgG no item 2, observou-se um valor maior para o participante A.

Tabela 03: Resultados de métodos imunológicos automatizados com dados individuais (Kit Euroimmun - EIA para IgA e IgG)

Razão	IgA					Razão	IgG				
	Item 1	Item 2	Item 3	Item 4	Item 5		Item 1	Item 2	Item 3	Item 4	Item 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						

Tabela 03: Dados individuais (Razão) dos itens enviados no programa de ensaio de proficiência de Coronavirus SARS-CoV-2 na rodada 01/2020, separado por laboratório, item e ensaio. Dados representados pelos kits Euroimmun – EIA de IgA e IgG.

Método quimioluminescência (sistema MagLumi)

O sistema MagLumi utiliza o método de quimioluminescência e foi avaliado no programa de forma quantitativa (numérica). Conforme a tabela 04, para o anticorpo IgG, o item 1 tratava-se de um material negativo, seguindo o valor de referência disponibilizado na bula do fabricante (AU/mL <1). Diferentemente do sistema Euroimmun, que identificou o item como positivo. Nos itens 2, 4 e 5 observou-se valores considerados como positivos (AU/mL ≥ 1). Para o item 3, observou-se uma maior variação analítica. Destaca-se o participante “Part. B” que apresentou valor mais alto que os demais usuários, exceto para o item 1.

Esses dados foram apresentados a seguir:

Tabela 04: Resultados de métodos imunológicos automatizados com dados individuais (Kit MagLumi IgG – Q)

AU/mL	IgG				
	Item 1	Item 2	Item 3	Item 4	Item 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
Média	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%

Tabela 04: Dados individuais (AU/mL) dos itens enviados no programa de ensaio de proficiência de Coronavírus SARS-CoV-2 na rodada 01/2020, separado por laboratório, item e ensaio. Dados representados pelo kit MagLumi IgG - Q

Para IgM no sistema MagLumi, (tabela 05), os participantes apresentaram consenso negativo para o item 4 e positivo para o item 3. Já os demais itens (1, 2 e 5), observou-se valores, acima e abaixo, do valor de referência disponibilizado na bula do fabricante. Destaca-se novamente o participante “Part. B” que apresentou para IgM valores mais baixos em todos os itens.

Tabela 05: Resultados de métodos imunológicos automatizados com dados individuais (Kit MagLumi IgM – Q)

AU/mL	IgM				
	Item 1	Item 2	Item 3	Item 4	Item 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
Média	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%

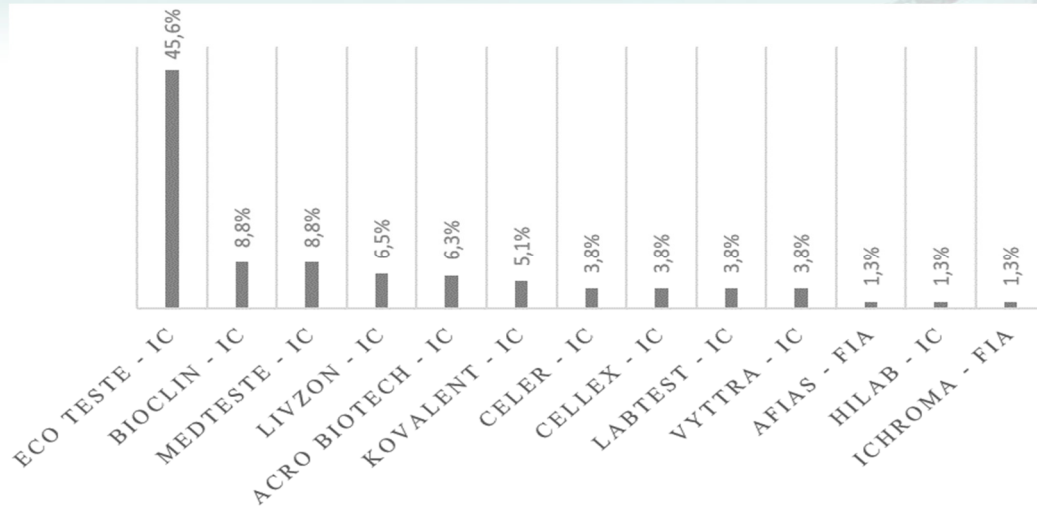
Tabela 05: Dados individuais (AU/mL) dos itens enviados no programa de ensaio de proficiência de Coronavírus SARS-CoV-2 na rodada 01/2020, separado por laboratório, item e ensaio. Dados representados pelo kit MagLumi – Q IgM

Método imunológico por Teste Laboratorial Remoto (TLR)

Reportaram resultados utilizando métodos imunológicos por Teste Laboratorial Remoto (TLR) 79 laboratórios. Foram reportados 13 tipos distintos, sendo 11 deles métodos imunocromatográficos (IC), e 02 participantes empregaram método imunoensaio de fluorescência (FIA).

O kit Celer one step COVID-19 test – Celer Biotecnologia SA avalia as imunoglobulinas totais. Os demais consistem em anticorpos anti IgG e anti IgM.

Gráfico 05: Percentual de respostas por kit de TLR reportado no Ensaio de Proficiência



O gráfico 05: Percentual de respostas dos kits de TLR no programa de ensaio de proficiência de Coronavírus SARS-CoV-2 na rodada 01/2020.

A maioria dos participantes (63,2%) utiliza apenas 03 marcas, sendo a Eco Teste a mais empregada (45,6%), seguida de Bioclin (8,8%) e MedTeste (8,8%); as outras 10 marcas oscilaram entre 1,3% e 6,5% dos participantes nesta rodada.

Levando em consideração apenas os itens avaliados, o desempenho geral dos kits de Teste Laboratorial Remoto no ensaio de proficiência é apresentado a seguir. Esse percentual foi calculado frente ao número total de respostas reportados por eles para IgG, IgM e Total (IgG + IgM).

Gráfico 06: Percentual geral de adequação por kit de TLR no Ensaio de Proficiência

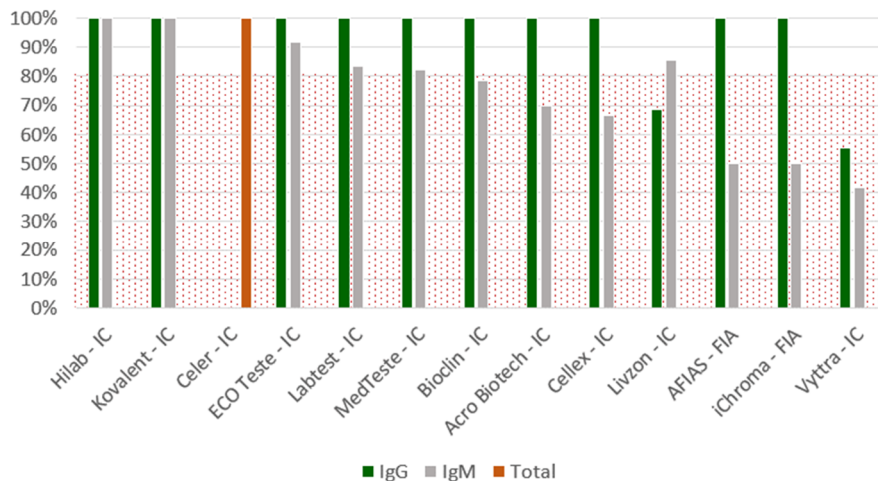


Gráfico 06: Percentual de adequação geral dos kits frente aos itens avaliados no programa de ensaio de proficiência de Coronavírus SARS-CoV-2 na rodada 01/2020. Desempenho geral abaixo de 80% foram destacados.

Analisando o gráfico 06 e a tabela 06, observa-se que grande parte dos kits de TLR apresentaram para IgG e IgM percentual de adequação próximo ou igual a 100%. Apenas 02 fabricantes apresentaram adequações para IgG inferiores a 80%, no entanto para IgM seis foram considerados como inadequados, isto é, inferiores a 80%.

Tabela 06: Percentual geral de adequação por kit de TLR no Ensaio de Proficiência

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%	-

Tabela 06: Percentual de adequação dos kits imunológicos de TLR, avaliados no programa de ensaio de proficiência de Coronavírus SARS-CoV-2 na rodada 01/2020.

Importante destacar que os itens “não avaliados” estão relacionados à falta de consenso “intra” e “entre” kits, que serão apresentados mais à frente no desempenho individual dos itens de ensaio. Desta forma, o percentual de adequação desses kits necessita ser confrontado com os itens “não avaliados”.

Ao analisar o percentual de adequação dos kits, deve-se observar também a sua representatividade no mercado frente aos usuários que reportaram o programa de ensaio de proficiência.

Avaliação individual dos itens, frente aos métodos imunológicos por Testes Laboratorial Remoto (TLR)

Item 1

Tabela 07: Percentual de respostas por método imunológico com kit de TLR (item 1)

KIT	Qty	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 Geral	79	30%	70%	0%	78%	22%	0%	0%	100%	0%
		Não avaliado			Negativo			Negativo		

Tabela 07: Comportamento de cada kit e anticorpo reportado no programa de ensaio de proficiência de Coronavírus SARS-CoV-2 na rodada 01/2020, para o item 1. Esse item tratava-se de um doador único, que apresentou RT-PCR positivo no início da infecção e realizou uma nova coleta 25 dias após o início dos sintomas.

Analisando a tabela 07, podemos observar que o consenso de 78% indicou que o item era negativo para IgM. Nos casos cujo reporte foi positivo, utilizavam apenas 3 marcas (Bioclin, Eco teste e Medteste). Para IgG, alguns kits não apresentaram consenso, resultando em um percentual aproximado de 30% reportando negativo e 70% reportando como positivo. Vale destacar que alguns desses kits não obtiveram consenso dentro do seu próprio grupo. Ressalta-se ainda que pelos dias entre o início dos sintomas e a coleta, esperava-se um consenso “Positivo” para IgG.

Pela presença de anticorpo identificado por 70% dos participantes que reportaram IgG, o kit que reportou “anticorpos totais” foi avaliado frente a esse consenso.

Item 2

Conforme a tabela 08, esse item apresentou maior consenso entre os kits que detectam o anticorpo IgG, possibilitando a sua avaliação. Para o anticorpo IgM o consenso foi menor, resultando em não avaliação desse marcador no ensaio de proficiência. Destaca-se que o tempo entre o início dos sintomas e a coleta do material do paciente foi o mesmo do item 1.

Pela presença de anticorpo identificado pelo IgG no consenso do item, o kit que reportou “anticorpos totais” foi avaliado frente a esse consenso.

Tabela 08: Percentual de respostas por método imunológico com kit de TLR (item 2)

KIT	Qty.	IgG			IgM			Total		
		Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	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 Geral	78	4%	96%	0%	46%	54%	0%	0%	100%	0%
			Positivo			Não Avaliado			Positivo	

Tabela 08: Comportamento de cada kit e anticorpo reportado no programa de ensaio de proficiência de Coronavírus SARS-CoV-2 na rodada 01/2020, para o item 2. Esse item tratava-se de um doador único, que apresentou RT-PCR positivo no início da infecção e realizou uma nova coleta 25 dias após o início dos sintomas.

Item 3

No que diz respeito ao menor tempo (dias após o início dos sintomas) em relação aos itens 1 e 2, este item não foi avaliado para IgG. Como o percentual de positividade entre IgG e IgM foram próximos, esse período apresenta ainda a transição entre a queda do IgM e o aumento do IgG, estando próximo da sensibilidade entre os sistemas. Pela presença de anticorpo identificado pelo IgM o kit que reportou “anticorpos totais” foi avaliado frente a esse consenso.

Ressalta-se ainda que pelos dias entre o início dos sintomas e a coleta, esperava-se um consenso “Positivo” para IgG.

Tabela 09: Percentual de respostas por método imunológico com kit de TLR (item 3)

KIT	Qty.	IgG			IgM			Total		
		Neg	Pos	Ind	Neg	Pos	Ind	Neg	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 Geral	76	28%	72%	0%	24%	76%	0%	0%	100%	0%
		Não Avaliado			Positivo			Positivo		

Tabela 09: Comportamento de cada kit e anticorpo reportado no programa de ensaio de proficiência de Coronavírus SARS-CoV-2 na rodada 01/2020, para o item 3. Esse item tratava-se de um doador único, que apresentou RT-PCR positivo no início da infecção e realizou uma nova coleta 15 dias após o início dos sintomas.

Item 4

Para esse item, o consenso foi maior entre os marcadores, possibilitando a sua avaliação tanto para IgG como para IgM, e o kit que reporta o ensaio como Total. Mesmo assim, conforme observado nos itens anteriores, alguns kits não apresentaram consenso entre os seus usuários.

Tabela 10: Percentual de respostas por método imunológico com kit de TLR (item 4)

KIT	Qty.	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 Geral	76	5%	93%	0%	11%	87%	0%	0%	100%	0%
		Positivo			Positivo			Positivo		

Tabela 10: Comportamento de cada kit e anticorpo reportado no programa de ensaio de proficiência de Coronavírus SARS-CoV-2 na rodada 01/2020, para o item 4. Esse item tratava-se de um doador único, que apresentou RT-PCR positivo no início da infecção e realizou uma nova coleta 25 dias após o início dos sintomas.

Item 5

Para esse item, o consenso foi maior entre os marcadores, possibilitando a sua avaliação tanto para IgG como para IgM, e o kit que reporta o ensaio como Total. Mesmo obtendo um percentual de adequação maior, alguns kits não apresentaram consenso entre os seus usuários.

Tabela 11: Percentual de respostas por kit de TLR item 5

KIT		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 Geral	76	3%	97%	0%	7%	93%	0%	0%	100%	0%
			Positivo			Positivo			Positivo	

Tabela 11: Comportamento de cada kit e anticorpo reportado no programa de ensaio de proficiência de Coronavírus SARS-CoV-2 na rodada 01/2020, para o item 5. Esse item tratava-se de um doador único, que apresentou RT-PCR positivo no início da infecção e realizou uma nova coleta 25 dias após o início dos sintomas.

Conclusão

Técnicas Moleculares

Foi possível observar uma grande variedade de alvos moleculares sendo utilizados para amplificação e detecção, pois mesmo havendo recomendações por parte de organismos internacionais, como Organização Mundial da Saúde (OMS) e Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS), não há consenso científico com relação àqueles que apresentam melhores desempenhos e efetividade. Esta situação era esperada, já que se trata de uma doença nova (COVID-19), que surpreendeu a todos do segmento da saúde e o mundo em geral.

Com relação aos resultados inadequados, existem várias razões para essas ocorrências, que vão desde falhas técnicas nos procedimentos laboratoriais, nesse caso a necessidade de treinamento do pessoal da área técnica e possível necessidade de revisão dos processos - passando pela qualidade dos insumos e kits utilizados e pelo mau funcionamento dos equipamentos envolvidos – até os diversos alvos de detecção e critérios de aceitação/ limites de CTs (*Cycle Threshold*) a considerar.

Desta forma, recomenda-se que cada laboratório analise de forma individual o seu desempenho e que utilize as informações cedidas pelo provedor com o desempenho geral do mercado (documentos Perfil de Resultados e esse relatório) para avaliar o desempenho do sistema analítico no programa de Ensaio de Proficiência. Importante também que esses usuários busquem o uso contínuo de material de referência, como controle de qualidade interno, para validar diariamente as suas rotinas e eliminar quaisquer interferentes que reflitam de forma negativa na confiabilidade dos resultados dos pacientes.

Métodos Imunológicos

Métodos imunológicos automatizados: como o ensaio de proficiência foi oferecido logo no início da pandemia, os sistemas automatizados ainda não estavam sendo ofertados em grande número no mercado e isso explica menos participações desses sistemas analíticos no programa. Espera-se que, na próxima rodada, no mês de junho de 2020, haja um número maior de participantes, possibilitando apresentar o comportamento de mais sistemas analíticos disponíveis no mercado nacional.

Os laboratórios que utilizaram esses sistemas analíticos necessitam verificar o comportamento dos seus dados frente aos demais participantes que utilizaram o mesmo sistema (dados individuais: Tabela de 3 a 5), buscando identificar oportunidades de melhorias como calibração e padronização da rotina frente ao que é recomendado pelo fabricante e, conseqüentemente, minimizar a variação dos dados.

A diferença de interpretação entre os sistemas dentro do mesmo item como “positivo” ou “negativo” será melhor analisada com a entrada de novos integrantes e sistemas no ensaio de proficiência.

Métodos imunológicos por Teste Laboratorial Remoto (TLR): esses métodos apresentaram um maior número de participantes e com diferentes fabricantes, possibilitando-se uma análise estatística mais robusta entre os sistemas reportados.

Para esse método de análise, alguns itens/ anticorpos não foram avaliados no programa de ensaio de proficiência devido à falta de consenso “intra” e “entre” kits, o que resultou em um maior percentual de adequação dos kits apresentados no gráfico 6 e na tabela 6. Ressalta-se, nesse caso, que esses “não avaliados” tratavam-se de doadores únicos, com mais de 15 dias do início de sua infecção, confirmados por RT-PCR, o que demonstra nesse caso a falta de padronização de sensibilidade entre os kits e, talvez, entre os seus lotes.

Para a falta de consenso dentro do mesmo kit, sugere-se que os usuários verifiquem a forma pela qual estão realizando suas análises frente ao procedimento indicado pelo fabricante. Importante comentar também que seja verificado, no Anexo 1, o consenso desses kits frente aos lotes reportados, que poderá indicar, para alguns deles, possível mudança de sensibilidade entre os lotes.

Tal comportamento ressalta a necessidade dos fabricantes e importadores realizarem a validação dos seus kits com materiais de referência e de fazerem também, de forma contínua, o monitoramento prévio da sensibilidade entre lotes dos kits que serão disponibilizados ao mercado. Importante destacar ainda a responsabilidade dos laboratórios de realizarem a validação do kit assim que for implantado e executarem uma análise simples entre lotes e remessas com materiais de referência/ controle.

Devido ao grande número de falhas de reportes de resultados para esta metodologia, aproveitamos para solicitar aos laboratórios, que contribuíram com esse relatório, que façam uma análise crítica de seus resultados, buscando selecionar criteriosamente os fornecedores de conjuntos diagnósticos. Certamente, todos os outros cuidados com relação a procedimentos técnicos devem ser realizados; como exemplo, sugerimos tornar as boas práticas objeto de atenção e revisão permanentes.

A Controllab se comprometeu com essa causa e já possui controle de qualidade interno para todas as metodologias. A empresa disponibiliza também os serviços de Painel de Performance e de Validação lote a lote, que podem ser utilizados pelos fabricantes/ fornecedores dos kits e também pelos laboratórios.

Uma nova data para a segunda rodada do Ensaio de Proficiência de Coronavírus SARS-CoV-2 já está marcada: no próximo dia 15/6/2020.

Destacamos ainda alguns sites que estão divulgando suas análises frente aos testes de sensibilidade e especificidade dos kits. Um deles é o site da ANVISA <http://portal.anvisa.gov.br>, que divulga as análises prévias realizadas pelo INCQS (<https://www.incqs.fiocruz.br>); e o outro site é o do link <https://www.testecovid19.org/>, uma iniciativa de diversas entidades do setor laboratorial unidas no programa de avaliação dos kits diagnósticos para Covid-19.

Agradecimentos

Fica aqui registrado o nosso agradecimento a:

- ✓ Laboratórios que aderiram à iniciativa, que participaram e se comprometeram com a credibilidade e a qualidade dos seus laudos, apoiando o diagnóstico para o SARS-CoV2 com informações confiáveis. Os dados foram fundamentais para demonstrar ao mercado o desempenho dos sistemas analíticos utilizados.
- ✓ Diretoria e a equipe do Laboratório Sabin, em destaque Dr. Gustavo Barcelos Barra, Dra. Ticiane Henriques Santa Rita, Dr. Pedro Goes Mesquita e Dr. Rafael Henriques Jácomo, pela parceria e doação do material de Biologia Molecular.

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			1			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	
111877202	1				1		1				1			1	
111877206	1				1		1				1			1	
111879202	1	1			1		1				1			1	

IgM															
11877207	1				1			1			1			1	
111877202	1			1				1			1			1	
111877206	1				1			1			1			1	
111879202	2			1				1			1			1	

Comportamento 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	↓		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	3		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			2				2		2		
FJN29201	1				1		1				1			1	

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

Anexo 2

A seguir, listamos os laboratórios que possibilitaram que esse trabalho fosse realizado e disponibilizado ao mercado. Foi preciso ter agilidade para a incorporação desse ensaio de proficiência nas rotinas analíticas e os laboratórios se empenharam para demonstrar o seu comprometimento com a confiabilidade de seus dados, participando do programa.

Tabela 12: Lista dos laboratórios 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

PIAUÍ (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)

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