



Rastreabilidade Metrológica de kits para diagnóstico MOLECULAR de COVID-19: 1ª Avaliação de EP Brasileiro.

Maria Cristina Pessoa, José Mauro Granjeiro

INTRODUÇÃO: A saúde humana depende criticamente da capacidade de um diagnóstico preciso na qual medições confiáveis são cada vez mais importante.

Os laboratórios clínicos possuem um relevante papel na pandemia de COVID-19 pelo suporte às decisões clínicas e epidemiológicas. Apesar dessa importância, muitos dos resultados produzidos nos diversos sistemas analíticos - equipamentos/conjuntos diagnósticos (kits) disponíveis no mercado, não são comparáveis, ou não comutáveis, quando produzidos por laboratórios diferentes ou sistemas diagnósticos diferentes. E esses resultados não intercambiáveis (comutáveis), prejudicam a medicina baseada em evidências como também aos resultados gerados para diagnóstico e pesquisa clínica.

Essas diferenças ocorrem pelos mais diversos motivos nas diferentes fases analítica (pré, analítica e pós). E muitas vezes essa diferença origina no fato dos conjuntos diagnósticos não terem a mesma referência metrológica.

Uma das formas de assegurar a rastreabilidade metrológica de um resultado de exame é pelo uso de material de referência certificado (MRC) ou de método de referência (MetR) na fabricação dos insumos e/ou conjuntos diagnósticos^{1,2}.

A metrologia e a rastreabilidade metrológica de kits diagnósticos é um relevante critério na harmonização de resultados de laboratórios clínicos, por associar um resultado de medição a uma cadeia de comparações relacionadas ao nível mais alto de confiabilidade metrológica, conferindo comparabilidade com valores de referência internacionalmente reconhecidos aos resultados de medição.

OBJETIVO: Verificar as informações sobre rastreabilidade metrológica e os resultados obtidos nos conjuntos diagnósticos (kits) registrados no Brasil para os ensaios moleculares de COVID-19 que participaram da "Primeira avaliação de ensaio de proficiência para os métodos de detecção do SARS-CoV2" promovido pela empresa ControlLab.

MATERIAL E MÉTODOS

A seleção dos conjuntos diagnósticos analisados foi feita a partir da relação dos sistemas analíticos reportados por laboratórios que participaram da "Primeira avaliação de ensaio de proficiência para os métodos de detecção do SARS-CoV2" realizada em jun de 2020 para os testes moleculares.

As informações sobre rastreabilidade metrológica foram obtidas nas bulas/instruções técnicas dos conjuntos diagnósticos ou do calibrador disponibilizada na página da ANVISA para esses kits diagnósticos.

As informações sobre os resultados dos laboratórios nos diferentes sistemas analíticos foram obtidas no relatório "Primeira avaliação de ensaio de proficiência pioneiro para todos os métodos de detecção do SARS-CoV2" nas 2 amostras enviadas (BMSARS01 e BMSARS02) para ensaio pelo método molecular, sendo uma amostra "reagente/ detectável" e outra "não reagente/ não detectável".

Obs.: A ControlLab é um provedor acreditado pela Coordenação Geral de Acreditação (CGCRE) do Inmetro sob o nº PEP 003.

RESULTADOS - TESTES MOLECULARES

Os sistemas analíticos reportados pelos laboratórios participantes do programa são apresentados no Quadro 1. Estes conjuntos diagnósticos são originados de 4 fabricantes, sendo 2 (40%) da América do Norte (EUA), 1 (20%) do Brasil, e 2 (40%) da Ásia (Coreia do Sul e China).

O número de laboratórios e seus respectivos sistemas analíticos, que participaram na rodada enviada em maio de 2020 estão relacionados no Quadro 2.

Na pesquisa sobre rastreabilidade metrológica, que deveria estar disponibilizada pelos fabricantes nas instruções de uso dos conjuntos diagnósticos, foi observado que nenhum fabricante apresentou nenhuma informação (Quadro 3).

Obs.: Nas instruções de uso pesquisadas havia somente informações sobre o desempenho do método relacionada a sensibilidade analítica, que no kit Allplex™ 2019-nCoV Assay AccuPlex™ referenciau uso o material de referência, controle): SARS-COV-2, no kit Allplex™ SARS-CoV-2 Assay: TWIST BIOSCIENCE Cat. Nº. 102024 e nos kits Família cobas SARS-CoV-2 e Xpert Xpress SARS-CoV-2: USA_WA1/2020.

Os resultados obtidos pelos laboratórios participantes do programa estão apresentados no Quadro 4 para os resultados esperados não reagentes e Quadro 5 para os resultados esperados reagentes. Como se poder observar houve concordância entre todos os laboratórios na amostra "Não reagente". Mas não aconteceu a mesma concordância com a amostra "Reagente", em que 4 dos 12 laboratórios apresentaram **resultado falso negativo**.

Quadro 1 – Conjuntos diagnósticos reportados no programa "Primeira avaliação de ensaio de proficiência para os métodos de detecção do SARS-CoV2" – jun de 2020

FABRICANTE	PAÍS	SISTEMA ANALÍTICO
SEEGENE INC.	CORÉIA DO SUL	Allplex™ 2019-nCoV Assay e Allplex™ SARS-CoV-2 Assay
ROCHE MOLECULAR SYSTEM	EUA	Família cobas SARS-CoV-2
CHAOZHOU HYBRIBIO BIOCHEMISTRY	CHINA	COVID-19 Real-Time PCR Kit
MOBIUS LIFE SCIENCE	BRASIL	FAMÍLIA KIT XGEN MASTER COVID-19
CEPHEID	EUA	Xpert Xpress SARS-CoV-2

AGRADECIMENTO: À ControlLab pela gentileza da disponibilização do relatório.

e-mails: jmgranjeiro@inmetro.gov.br; mcpessoa@inmetro.gov.br

Quadro 2 – Nº DE LABORATÓRIOS PARTICIPANTES NO PROGRAMA EM CADA SISTEMA ANALÍTICO

Allplex - RT-PCR em Tempo Real	4	4
Cobas - RT-PCR em Tempo Real	1	1
Hyribio - RT-PCR em Tempo Real	1	1
XGEN - RT-PCR em Tempo Real	4	4
Xpert Xpress - RT-PCR em Tempo Real	2	2
TOTAL	12	12

Quadro 3 – Informação do fabricante sobre rastreabilidade metrológica

Allplex - RT-PCR em Tempo Real	Não informado
Cobas - RT-PCR em Tempo Real	Não informado
Hyribio - RT-PCR em Tempo Real	Não informado
XGEN - RT-PCR em Tempo Real	Não informado
Xpert Xpress - RT-PCR em Tempo Real	Não informado

Quadro 4 – Resultados para amostra BMSARS01

LAB.	Kit/Equipamento	RESULTADO
1	Allplex - RT-PCR em Tempo Real # CFX 96/ CFX 384	Não reagente
2	Allplex - RT-PCR em Tempo Real # CFX 96/ CFX 384	Não reagente
3	Allplex - RT-PCR em Tempo Real # CFX 96/ CFX 384	Não reagente
4	Allplex - RT-PCR em Tempo Real # Nimbus	Não reagente
5	Cobas - RT-PCR em Tempo Real # Cobas 6800	Não reagente
6	Hyribio - RT-PCR em Tempo Real # QuantStudio	Não reagente
7	XGEN - RT-PCR em Tempo Real # Applied Biosystems 7300/ 7500	Não reagente
8	XGEN - RT-PCR em Tempo Real # AriaMx	Não reagente
9	XGEN - RT-PCR em Tempo Real # GeneXpert	Não reagente
10	XGEN - RT-PCR em Tempo Real # GeneXpert	Não reagente
11	Xpert Xpress - RT-PCR em Tempo Real # GeneXpert	Não reagente
12	Xpert Xpress - RT-PCR em Tempo Real # GeneXpert	Não reagente
RESULTADO ESPERADO		Não reagente/não detectável
ADEQUAÇÃO		100%

Quadro 5 – Resultados para amostra BMSARS02

	Kit/Equipamento	RESULTADO
1	Allplex - RT-PCR em Tempo Real # CFX 96/ CFX 384	Reagente
2	Allplex - RT-PCR em Tempo Real # CFX 96/ CFX 384	Reagente
3	Allplex - RT-PCR em Tempo Real # CFX 96/ CFX 384	Não reagente
4	Allplex - RT-PCR em Tempo Real # Nimbus	Não reagente
5	Cobas - RT-PCR em Tempo Real # Cobas 6800	Reagente
6	Hyribio - RT-PCR em Tempo Real # QuantStudio	Não reagente
7	XGEN - RT-PCR em Tempo Real # Applied Biosystems 7300/ 7500	Não reagente
8	XGEN - RT-PCR em Tempo Real # AriaMx	Reagente
9	XGEN - RT-PCR em Tempo Real # GeneXpert	Reagente
10	XGEN - RT-PCR em Tempo Real # GeneXpert	Reagente
11	Xpert Xpress - RT-PCR em Tempo Real # GeneXpert	Reagente
12	Xpert Xpress - RT-PCR em Tempo Real # GeneXpert	Reagente
RESULTADO ESPERADO		Reagente/Detectável
ADEQUAÇÃO		66,7%

CONCLUSÃO:

Nenhuma das empresas produtoras de conjuntos diagnósticos pesquisadas disponibilizaram a informação sobre rastreabilidade metrológica nas instruções de uso de seus kits comercializados. Quanto aos resultados, considerando que uma amostra de EP pode ser comparada a uma amostra de paciente, os resultados da amostra "Não reagente" foram muito bons e concordaram em todos os laboratórios. Já a amostra "Reagente" variaram significativamente e esta diferença apresentada entre os resultados positivos impactariam enormemente na vida das pessoas testadas, pois somente 67% concordaram entre si e obtiveram o resultado esperado, e consequentemente 33,3% dos laboratórios liberariam, se fosse um paciente, resultados falso negativo.

Ainda que haja "n" variáveis para as diferenças encontradas nos resultados de laboratório, o que se espera dos laboratórios clínicos e de todos os envolvidos no diagnóstico laboratorial é que busquem e estimulem cada vez mais a harmonização dos resultados. E uma das premissas básicas de resultados comparáveis é a existência de uma referência metrológica, fornecida pelo uso de MRC ou MetR na produção de kits diagnósticos, ou seja, **uma mesma referência para sistemas analíticos que pretendem quantificar um mesmo analito**.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- "Primeira avaliação de ensaio de proficiência pioneiro para todos os métodos de detecção do SARS-CoV2" disponível em: https://controlab.com/destaques/2020/arquivos/Relatorio_EP_SARSCOV2.pdf
- ABNT NBR NM ISO 17511:2010 - Produtos médicos para uso em diagnóstico in vitro - Medição de quantidades em amostras biológicas - Rastreabilidade metrológica de valores designados a calibradores e materiais de controle (ISO 17511:2003, IDT). 2010
- PANTEGHINI, M. Traceability, reference systems and result comparability. The Clinical Biochemist Reviews, v. 28, n. 3, p. 97, 2007.
- PESSOA, Maria Cristina Ferreira. Rastreabilidade Metrológica no Laboratório de Análises Clínicas. Orientador: Ferreira, Orlando. Dissertação (Mestrado) - UERJ Universidade Estadual do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015
- Bulas dos kits disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br> - consulta de produtos regularizados
- USA_WA1/2020 disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/MN985325.1>
- AccuPlex™ SARS-CoV-2 disponível em: <https://www.seracare.com/globalassets/seracare-resources/>
- TWIST BIOSCIENCE Cat. Nº.102024 disponível em: <https://www.twistbioscience.com/resources/twist-synthetic-sars-cov-2-rna-control>



Sociedade Brasileira de Patologia Clínica
Medicina Laboratorial
25/09 A 02/10/2020

Realização

