



**MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA
NÚCLEO DE PROGRAMAS INTERLABORATORIAIS E MATERIAIS DE REFERÊNCIA**

INSTRUÇÕES AOS PARTICIPANTES

DOCUMENTO Nº 39273427

**ENSAIO DE PROFICIÊNCIA (EP) PARA DETECÇÃO DE RNA DO VÍRUS DA INFLUENZA AVIÁRIA (AIV) E
DOENÇA DE NEWCASTLE (NDV) POR RT-QPCR, RODADA ÚNICA 2024 (PLANEP/PRIMAR/062 V.01)**

INTRODUÇÃO

O Ensaio de Proficiência (EP) para Detecção de RNA do vírus da influenza aviária (AIV) e doença de Newcastle (NDV) por RT-qPCR, rodada única no ano de 2024, tem como objetivo verificar os resultados e avaliar o desempenho dos laboratórios participantes, permitindo uma análise sobre a confiabilidade dos resultados analíticos e promovendo a melhoria contínua da qualidade.

As etapas do programa estão indicadas no cronograma a seguir:

Tabela 1. Cronograma

Rodada	Etapa	Período
Única 2024	Inscrição dos participantes	Setembro de 2024
	Estudos de viabilidade, preparação do material, estudos de homogeneidade e estabilidade	Outubro e Novembro de 2024
	Distribuição dos itens de ensaio aos laboratórios participantes	Novembro de 2024
	Submissão dos resultados	31 de janeiro de 2025
	Emissão do relatório final	Março de 2025

Este cronograma poderá sofrer alterações ao longo da rodada. Caso isso ocorra, os laboratórios participantes serão informados por email.

INSTRUÇÕES AOS PARTICIPANTES

Leia atentamente as instruções abaixo antes de iniciar os testes.

PAINEL DE AMOSTRAS

Seu laboratório recebeu um painel com dez amostras, identificadas individualmente do PCR 01 ao PCR 10, cada uma contendo quinhentos microlitros (500 µL) de antígenos inativados diluídos em meio de transporte molecular (MTM).

Os antígenos inativados selecionados podem incluir diferentes subtipos do vírus influenza A (AIV) e do vírus da doença de Newcastle (NDV), provenientes de laboratórios de referência da OMSA (Organização Mundial de Saúde Animal) ou preparados a partir de isolados virais do banco de ativos da unidade DIA (Diagnóstico Animal) do LFDA-SP.

O volume das amostras é suficiente para realização dos testes.

As amostras recebidas deverão ser utilizadas apenas para os propósitos do ensaio de proficiência e apenas em provas de diagnóstico veterinário *in vitro*. As amostras não devem ser distribuídas a uma terceira parte.

CONFIRMAÇÃO DE RECEBIMENTO DE AMOSTRAS

No ato do recebimento, os laboratórios deverão inspecionar os itens de ensaio e imediatamente informar o recebimento e as condições dos itens, por meio do preenchimento do formulário disponível no link:

https://forms.office.com/Pages/ResponsePage.aspx?id=jrNnk-sXWEOmZVylfrwwsXcWzlv5wlKmXdI_4Nkze5UMUMwMjI4VzJaQUJMV0o1SFJNOVpKUkFQSy4u

Em caso de perda ou dano dos itens de ensaio, o laboratório deverá entrar em contato com o PRIMAR através do e-mail primar@agro.gov.br. Não está previsto o envio de painel adicional para suprir ocorrências relacionadas à perda ou dano dos itens do EP.

Os itens de ensaio deverão ser armazenados sob refrigeração (2°C a 8°C) imediatamente após a chegada ao laboratório.

INSTRUÇÕES PARA REALIZAÇÃO DOS ENSAIOS

O laboratório participante deverá realizar a manipulação e descarte dos itens ensaiados de acordo com os procedimentos internos e com a legislação nacional vigente.

As amostras do EP deverão ser tratadas e manipuladas de acordo com os procedimentos de rotina do participante. Os laboratórios utilizarão seus protocolos de rotina tanto para a extração de ácidos nucleicos como para a detecção do RNA do vírus da influenza aviária (detecção do gene M ou outro gene conservado), do RNA específico dos subtipos H5, H7 e H9 do AIV e do RNA do vírus da doença de Newcastle.

Os laboratórios participantes deverão realizar primeiramente os ensaios de triagem para detecção do RNA dos vírus da influenza aviária e do vírus da doença de Newcastle por RT-qPCR. As amostras positivas nas provas de triagem deverão, então, ser submetidas a testes específicos para detecção do RNA dos subtipos H5, H7 e H9 do AIV e para detecção do RNA do gene F e gene M do NDV, quando disponíveis.

Os laboratórios deverão informar os insumos utilizados para a realização das provas, assim como a referência dos protocolos.

Os laboratórios deverão informar tanto os resultados quantitativos (valor do Ct) como os qualitativos (positivo ou negativo), para cada tipo/subtipo de vírus (no caso de AIV) ou gene (no caso de NDV), em cada amostra do painel. O participante que obtiver um resultado “Suspeito” deverá realizar tratativas e reportar um resultado final como “Positivo” ou “Negativo”.

Quando o laboratório não dispuser de método para analisar algum subtipo de vírus (no caso de AIV) ou gene (no caso de NDV), ele deve informar como “Não realizado”.

Durante a execução do ensaio, o analista deve estar atento a potenciais fontes de erro tais como: manuseio inadequado dos itens de ensaio, falta de ajuste, manutenção ou calibração de equipamentos, uso de reagentes vencidos, erro na unidade de medida ou expressão dos resultados, dentre outros.

As análises deverão ser realizadas no período estabelecido no cronograma.

ENVIO DE RESULTADOS AO PROVEDOR

Os resultados deverão ser submetidos preenchendo o formulário para "Envio dos resultados do Ensaio de Proficiência (EP) para a Detecção de RNA do vírus da influenza aviária (AIV) e da doença de Newcastle (NDV) por meio de RT-qPCR", cujo link será disponibilizado em uma comunicação específica.

Os resultados deverão ser submetidos até o dia 31 de janeiro de 2025, 23h59 (horário do Brasil).

ATRIBUIÇÃO DO VALOR DESIGNADO

Os valores designados para os itens de ensaio serão expressos com base no resultado qualitativo: positivo ou negativo. Adicionalmente poderão ser apresentados valores de Ct, os quais poderão ser utilizados para análises estatísticas adicionais.

A rastreabilidade metrológica dos itens de ensaio será estabelecida de duas formas:

- amostras preparadas a partir de materiais de referência provenientes de laboratório de referência da OMSA;
- amostras provenientes do banco de ativos do LFDA-SP, caracterizadas no LFDA-SP (laboratório de referência da OMSA), empregando método de referência para detecção do RNA dos vírus da AIV e NDV.

AVALIAÇÃO DE DESEMPENHO

Avaliação de desempenho para influenza aviária

A avaliação de desempenho para detecção de RNA do vírus da influenza aviária (AIV) será realizada com base nos resultados qualitativos, apresentados como “positivo”, ou “negativo”, para cada tipo/subtipo de vírus analisado.

Para avaliação dos resultados reportados serão adotadas as seguintes regras:

Valor designado pelo provedor (Positivo): Resultado aceito (Positivo);

Valor designado pelo provedor (Negativo): Resultado aceito (Negativo).

A avaliação de desempenho será apresentada para cada tipo/subtipo de vírus analisado, considerando todo o conjunto de amostras do painel, conforme abaixo:

- desempenho “Satisfatório”: concordância dos resultados relatados pelo participante, com os valores designados pelo provedor para um determinado tipo/subtipo de vírus, em todas as amostras do painel;
- desempenho “Insatisfatório”: discordância do resultado relatado pelo participante, com o valor designado pelo provedor, para um determinado tipo/subtipo de vírus, em uma ou mais amostras do painel.

Os subtipos não analisados pelo laboratório, não serão considerados para fins de avaliação de desempenho, desde que o laboratório reporte como “Não realizado”.

8.5.2 Avaliação de desempenho para Doença de Newcastle

A avaliação de desempenho para detecção de RNA do vírus da Doença de Newcastle (NDV), será realizada com base nos resultados qualitativos, apresentados como “positivo” ou “negativo”, para cada gene analisado.

Para avaliação dos resultados reportados serão adotadas as seguintes regras:

Valor designado pelo provedor (Positivo): Resultado aceito (Positivo);

Valor designado pelo provedor (Negativo): Resultado aceito (Negativo).

A avaliação de desempenho será apresentada para cada gene analisado, considerando todo o conjunto de amostras do painel, conforme abaixo:

- desempenho “Satisfatório”: concordância dos resultados relatados pelo participante, com os valores designados pelo provedor para um determinado gene, em todas as amostras do painel;
- desempenho “Insatisfatório”: discordância do resultado relatado pelo participante, com o valor designado pelo provedor, para um determinado gene, em uma ou mais amostras do painel.

Caso o laboratório não analise o gene F, deverá reportar o resultado como “Não realizado”, e neste caso, não será realizada avaliação de desempenho para esta prova.

Outros métodos estatísticos poderão ser empregados desde que fundamentados e descritos no relatório final.

RELATÓRIO FINAL

Ao final do programa, o PRIMAR emitirá um relatório final do ensaio de proficiência, contendo dentre outras informações, as seguintes:

- Descrição dos itens de ensaio, incluindo detalhes sobre sua preparação e avaliação da homogeneidade e estabilidade;
- Valores designados;
- Procedimentos utilizados para a análise estatística dos dados;
- Resultados dos participantes (identificados apenas por códigos);
- Dados estatísticos e sumários, incluindo o desempenho dos participantes;
- Comentários sobre o desempenho dos participantes.

O relatório será enviado por e-mail aos participantes.

O relatório é de uso restrito ao PRIMAR e aos laboratórios participantes. No caso dos laboratórios oficiais (LFDA) e credenciados que compõem a Rede Nacional de Laboratórios Agropecuários do Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA), os resultados e avaliações de desempenho poderão ser disponibilizados pelo PRIMAR em atendimento aos interesses do MAPA e seus órgãos.

Não é permitido o uso do relatório, ou de partes dele, pelo participante ou por alguém por ele autorizado, com fins promocionais ou publicitários.

CONFIDENCIALIDADE

A relação dos laboratórios participantes poderá ser apresentada no relatório, mas os resultados e avaliações de desempenho individuais serão mantidos confidenciais. Os laboratórios receberão uma identificação unívoca, constituída por códigos alfanuméricos, de conhecimento apenas da organização coordenadora e do respectivo participante. Cada participante terá acesso apenas ao seu código identificador.

Os participantes podem optar por renunciar à confidencialidade dentro do programa para um propósito particular. Neste caso, faz-se necessária a comunicação por escrito à organização coordenadora.

Informações de natureza coletiva tais como procedimentos adotados na execução e operacionalização do ensaio, bem como interpretações dos resultados obtidos, poderão tornar-se públicas a qualquer tempo, inclusive em trabalhos científicos, preservando-se na divulgação a identidade do laboratório participante.

Os laboratórios oficiais (LFDA) e credenciados que compõem a Rede Nacional de Laboratórios Agropecuários do Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) estão sujeitos à quebra da confidencialidade em atendimento aos interesses do MAPA e seus órgãos, independentemente de anuênciam.

INFORMAÇÕES SOBRE FALSIFICAÇÕES

O PRIMAR orienta os participantes a realizarem as análises deste programa de forma verdadeiramente independente.

O PRIMAR adota as precauções pertinentes para prevenção de fraudes, garantindo a confidencialidade das informações. Os registros que contém valores designados são mantidos seguros, evitando a divulgação antecipada indevida.

Ainda que o PRIMAR, como instituição organizadora e coordenadora do estudo adote medidas cabíveis para prevenir falsificações de resultados, convém que os participantes sejam os responsáveis por evitá-las.

INFORMAÇÕES SOBRE APELAÇÕES

Apelações consideradas pertinentes pelos laboratórios participantes deverão ser encaminhadas ao PRIMAR e-mail primar@agro.gov.br até 30 dias após a divulgação do relatório final do programa de ensaio de proficiência.

CONTINGÊNCIAS

Caso ocorram situações de não conformidades relativas a este Plano, o PRIMAR deve ser consultado para solucionar as dúvidas e adotar as medidas cabíveis.

CONTATO DO PROVEDOR



Núcleo de Programas Interlabororiais e Materiais de Referência - PRIMAR/CDI/CGAL

Avenida Rômulo Joviano, S/N, Bairro Olaria - Pedro Leopoldo/MG

CEP 33250-220

primar@agro.gov.br



Documento assinado eletronicamente por **ROSEANE BRANDAO DE BRITO**, Chefe de Núcleo, em 29/11/2024, às 17:11, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 4º,§ 3º, do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.](#)



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site:

https://sei.agro.gov.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0

, informando o código verificador **39273427** e o código CRC **D41706B4**.

Referência: Processo nº 21000.038088/2024-98

SEI nº 39273427