



**Pan American  
Health  
Organization**



**World Health  
Organization**

REGIONAL OFFICE FOR THE **Americas**

**SARInet**

Severe Acute Respiratory Infections network

# Proficiency Panel Testing for Influenza, Brazil

A central graphic for SARInet featuring a green globe with the Americas highlighted. The globe is surrounded by several blue, stylized human figures in various poses, connected by a network of pink and orange lines. Several green, spiky virus particles are scattered around the globe.

**SARInet**

**Dr. Maria de Lourdes Aguiar Oliveira  
Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz)**

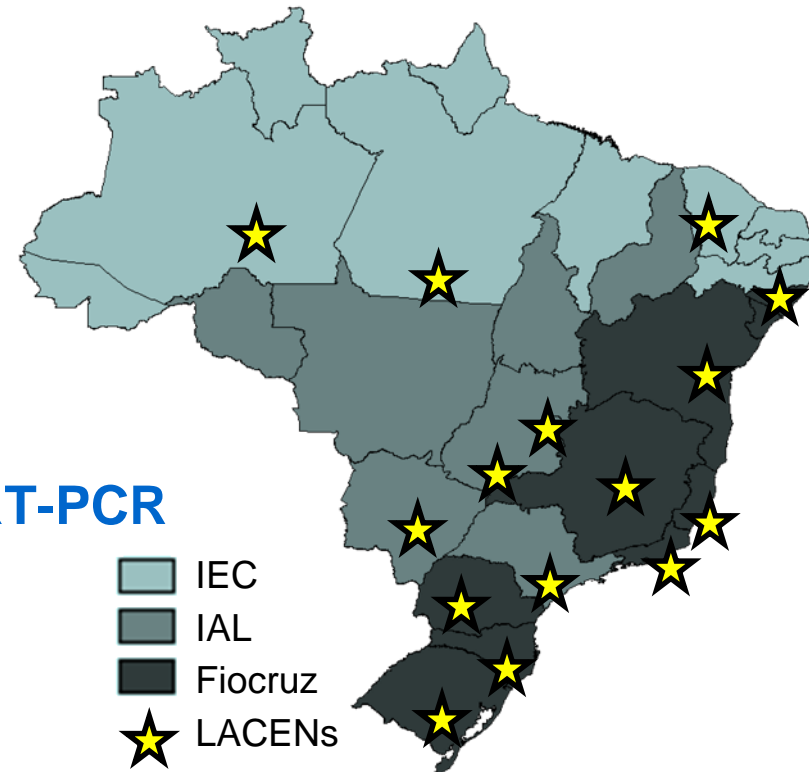


# The Brazilian Influenza lab network

- ❑ Health Surveillance Secretariat – SVS, Brazilian Ministry of Health
- ❑ National Influenza Centers/WHO
  - Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz), Rio de Janeiro (National Reference Laboratory, MoH)
  - Adolpho Lutz Institute (IAL), São Paulo
  - Evandro Chagas Institute (IEC), Pará
- ✓ 27 State Public Health Laboratories LACENs

✓ **15 LACENs perform real-time RT-PCR**

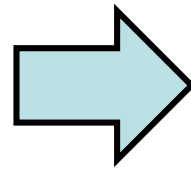
★ **Proficiency testing**





# CDC Influenza Quality Assessment panel

Sample	Status
1	Inf A/H3
2	Inf A(H1N1)p
3	Inf B
4	Negative
5	Inf A/H3
6	Inf A/H3N2v
7	Inf B
8	Inf A/H3
9	Negative
10	Inf A(H1N1)p



Inf A(H1N1)p 2  
Inf A/H3 3  
Inf A/H3N2v 1  
Inf B 2  
Negative 2



# Proficiency Panel Testing for Influenza , Brazil

Secretaria Nacional por Departamento de Saúde e Serviços Humanos - Centro de Saúde Pública - CDC - Atenas, GR 2022

**Não Descarte esta folha: Informações importantes sobre o produto**

**Painel CDC para avaliação da qualidade na detecção molecular de influenza**

**Ficha de informações sobre o painel e indicação de uso**

**Catálogo:** P10022

**Lote:** 13-4108

**Data de Produção:** 08ago2013

**Uso Previsto**  
Para avaliação de qualidade dos métodos de diagnóstico molecular usados para detecção e caracterização de influenza. Não reutilizar. Não redistribuir. Este painel não possui nenhum uso terapêutico ou para diagnóstico em seres humanos. **Este produto não é propriedade do Centro para o Controle de Doenças e está disponível como um serviço para os laboratórios de saúde pública de comunidades. Este reativo não deve ser usado para desenvolvimento de produtos comerciais.**

**Descrição do Produto:**  
Vírus influenza do subtipo humano cultivados. Material não **cytopathic** (ativado com beta-propiolactona), distribuído como uma suspensão líquida em PBS 0.1M.

**Material Distribuído:**

Armadilha	Volume	Prazo
Armadilha 1	300µl	
Armadilha 2	300µl	
Armadilha 3	300µl	
Armadilha 4	300µl	
Armadilha 5	300µl	
Armadilha 6	300µl	
Armadilha 7	300µl	
Armadilha 8	300µl	
Armadilha 9	300µl	
Armadilha 10	300µl	

**Condições de envio:**  
Congelado em gelo seco.

**Condições de Armazenamento:**  
Após recebimento, conservar a -20°C ou menor até o uso.

**Envaso e envio de resultados:**  
Todos as amostras deverão ser processadas como espécimes clínicos humanos guardando-as em precauções de rotina para laboratório BSL-2. Toda manipulação das amostras deverá ser feita em cabine de segurança biológica (CSB) Classe II (ou superior). Em caso de dúvida, consulte o Manual de Biossegurança de OMS, 2ª edição (disponível em: <http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/Biosafety2.pdf>).

**Processamento das Amostras:**  
Todos as amostras deverão ser processadas como um único lote de **injeções** clínicas e examinadas dentro de 10 dias da data após o recebimento, utilizando-se o procedimento de extração de ácidos nucleicos e o método de diagnóstico molecular associado pela Rede de Vigilância em Influenza do Ministério da Saúde. Outros métodos utilizados em seu laboratório podem ser usados em associação ao método de RT-PCR adaptado pela rede do ILS. Todos as amostras positivas para influenza A deverão ser subtipadas (subtipos H5 ou H7) (em/02).

Secretaria Nacional por Departamento de Saúde e Serviços Humanos - Centro de Saúde Pública - CDC - Atenas, GR 2022

**Registro / envio de Resultados:**  
Todos os resultados deverão ser registrados usando o [Painel de Trabalho do Painel de CDC](#) ([Link Avaliador de Qualidade de Detecção Molecular de Influenza](#)). Esta ficha de trabalho está disponível tanto eletronicamente como, **opcionalmente**, impressa, dentro do pacote. A ficha de trabalho contém uma tabela na qual serão registrados os resultados para H5N1 em tempo real e outra para registro de resultados de Outros Métodos Moleculares. Por favor completar TODAS as informações solicitadas na ficha, incluindo todos os parâmetros do ensaio, resultados e conclusões para cada amostra, bem como a informação de contato do laboratório. As fichas de trabalho preenchidas deverão ser enviadas via e-mail a [form@cdc.gov.br](mailto:form@cdc.gov.br). Guarde uma cópia dos arquivos de envio e da ficha de trabalho enviada, para o caso de problemas no recebimento e re-entrega.

**Confirmação dos Resultados:**  
A avaliação dos resultados será reportada via e-mail ao remetente. A avaliação estará baseada na comparação dos dados reportados com os resultados esperados para cada amostra. Enviamos os resultados das análises aos LACETs participantes dentro de duas semanas seguintes à recepção dos resultados na FIOCRUZ.

**Observações e dúvidas referentes ao painel de protótipos:**  
Por favor envie as comentários por correio eletrônico a Fernando Iltis, [form@cdc.gov.br](mailto:form@cdc.gov.br).

**Fornecimento:**  
Distribuído pela Divisão de Influenza, Centro de **Biossegurança**, Centro de Doenças (CC) 1600 Clifton Road, Atlanta, GA 30333 USA.

**Distribuição:**  
Coordenação Geral de Laboratórios, SIVS, Ministério de **Saúde**, CC, OIA, SA, Príncipe, 2º andar, 7004-000 - Brasília DF  
e  
Laboratório de Vírus Respiratórios e do Sarampo (IOC, FIOCRUZ, Pav. HPP, Av. Brasil, 4305, 21040-900 - Rio de Janeiro - RJ)

## Instructions sheet

- Storage
- Biosafety recommendations
- Sample processing
- Deadlines:  
Testing & Results: 10 days  
Fiocruz feedback: 2 weeks



# Proficiency Panel Testing for Influenza, Brazil

## CDC Influenza Molecular Quality Assessment Panel- Results report

Painel CDC para avaliação da qualidade: detecção molecular de influenza (RT-PCR em tempo real)										
Informações sobre o Laboratório										
Nome do Laboratório:						CEP:				
Pessoa de Contato:						País:	Brasil			
Endereço:						Número de Tel.:				
Endereço (cont.):						Email:				
Cidade:						Data de recebimento do Painel:				
UF:						Data de teste do Painel:				
Resultados de real-time RT-PCR (Indique o valor de Ct, "undetected" ou "NT" se não for testado.)										
Número da amostra no Painel	Flu A	Flu B	AH1	AH3	pdmH1	pdmH1A	RnaseP			Resultado Final
Amostra 1										
Amostra 2										
Amostra 3										
Amostra 4										
Amostra 5										
Amostra 6										
Amostra 7										
Amostra 8										
Amostra 9										
Amostra 10										
PTC										
NTC										
Indique o(s) protocolo(s) de real-time RT-PCR usado(s)										
Ensaio usado						Especifique outro				
Fabricante dos oligos						Especifique outro				
Fabricante do equipamento						Especifique outro				
Modelo do equipamento						Especifique outro				
Indique o kit (mix de enzimas) utilizado no teste										
Fabricante:										
Nome do Kit:										
Número de catálogo do kit:										
Indique o método de extração de RNA utilizado										
Automático ou manual:										
Fabricante:										
Nome do kit:										
Número de catálogo do kit:										
WHO External Quality Assessment Program										
Seu laboratório participa do EQAP?	No									
Quando foi a participação mais recente?						Panel ID				
Comentários:										
peço teste						Data				
Assinatura do Revisor:						Data				
<a href="mailto:fcm@ioc.fiocruz.br">Envie para: fcm@ioc.fiocruz.br</a>										

### Lab identification

### Results

- Targets Ct values
- Final result

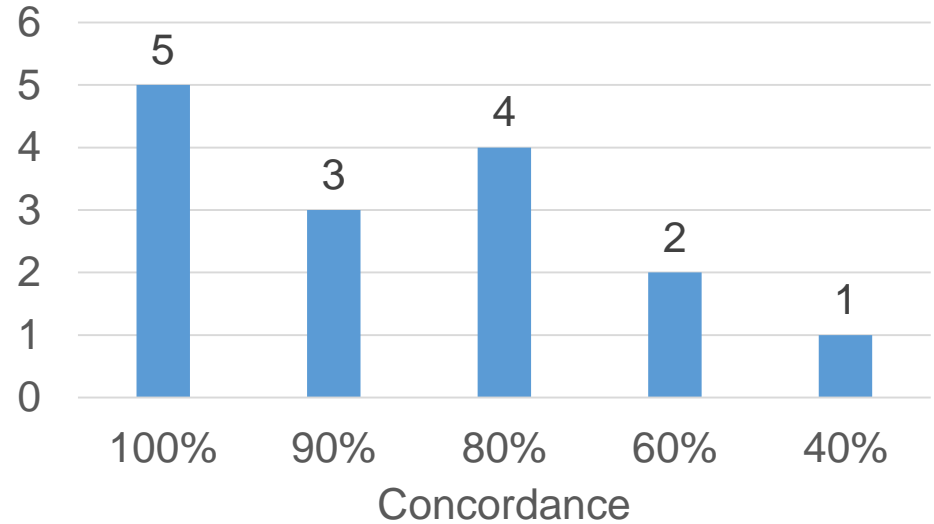
### Equipment & Reagents info

- Real time (oligos, enzymes)
- RNA extraction



# Concordance analysis

State labs	% Concordance
1	100
2	100
3	100
4	100
5	100
6	90
7	90
8	90
9	80
10	80
11	80
12	80
13	<b>60</b>
14	<b>60</b>
15	<b>40</b>



NICs	% Concordance
Adolpho Lutz Institute, São Paulo	100
Evandro Chagas Institute, Para	100

**80% of labs presented a satisfactory performance in real time RT-PCR testing for Influenza**



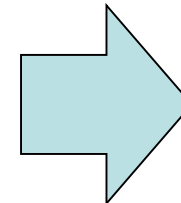
# Main misinterpretations

Sample	Status	% Concordance	Misinterpretations
1	Inf A/H3	100,0	
2	Inf A(H1N1)p	93,3	Inconclusive (n=1)
3	Inf B	93,3	FluA+FluB (n=1)
4	Negative	93,3	FluB (n=1) <b>FP</b>
5	Inf A/H3	93,3	Inconclusive (n=1)
6	Inf A/H3N2v	26,6	
7	Inf B	100,0	
8	Inf A/H3	93,3	Negative (n=1) <b>FN</b>
9	Negative	93,3	Flu A (n=1) <b>FP</b>
10	Inf A(H1N1)p	66,6	Negative (n=4) <b>FN</b> Inf A unsubt (n=1)

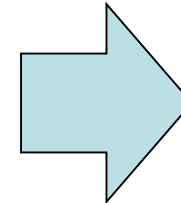


# A/H3v wrong classification (n=10)

Lab classification	N	not detected	pdmInfA	
			detected	Ct values
A/H3	4	3	1	32.0
Inconclusive	4	0	4	25.7
				30.0
				33.9
				22.6
FluA unsubtypeable	2	0	2	31.8
				30.0



**NIC**







# Did equipment/reagents influence lab performance?

State labs	% Concordance	Equipment	Extraction	Enzyme mix
1	100	ABI 7500	Qiagen	Invitrogen
2	100	Lightcycler 480	Qiagen	Invitrogen
3	100	ABI 7500	Axygen	Invitrogen
4	100	ABI 7500	x	x
5	100	ABI 7500	x	x
6	90	ABI 7500	Qiagen	Invitrogen
7	90	Lightcycler 480	Roche	Invitrogen
8	90	ABI 7500	GE	Invitrogen
9	80	ABI 7500	Biomerieux	Invitrogen
10	80	ABI 7500	Roche	Invitrogen
11	80	ABI 7500	Promega	Invitrogen
12	80	ABI7500/Fast	Roche	Invitrogen
13	<b>60</b>	ABI 7500	Roche	Invitrogen
14	<b>60</b>	Lightcycler 480	Qiagen	Invitrogen
15	<b>40</b>	ABI 7500	Roche	Invitrogen

**Equipment and reagents used for RNA extraction/real time PCR seem to have no influence on poor lab performance**



# Proficiency panel testing for Influenza, Brazil

## Immediate corrective actions

<80% concordance

**Local visits**

Standard instrument  
QA, Influenza testing

**Re-training at NICs**  
(bench & interpretation  
of results)

**Retesting samples**



# Proficiency Panel Testing for Influenza , Brazil

## Main future perspectives

- To perform additional analyses:
  - Statistical testing (kappa)
  - Range of Ct values
- To establish a small panel for “re-evaluation” of local activities, after corrective actions (including range of Ct values)
- To review the interpretation of real time RT-PCR results within the Brazilian labnet (release of the Laboratory Manual Guideline update)
- To implement a regular proficiency testing program in the labnet.



# Country perspective proficiency panel testing for Influenza, Brazil

---

# Thanks!

## Acknowledgements

CDC, USA

MoH, Brazil

Brazilian Labnet

Adolpho Lutz Institute

Evandro Chagas Institute

## Contacts

**National Influenza Center, Rio de Janeiro**  
**Oswaldo Cruz Foundation, Fiocruz, MoH**

Dr. Fernando Motta [fcm@ioc.fiocruz.br](mailto:fcm@ioc.fiocruz.br)

Dr. Maria de Lourdes Oliveira [mlooliveira@fiocruz.br](mailto:mlooliveira@fiocruz.br)

Dr. Marilda Siqueira, head of NIC, Rio de Janeiro  
[mmsiq@ioc.fiocruz.br](mailto:mmsiq@ioc.fiocruz.br)