

Profile of blood donors and seroepidemiology of dengue in a blood center in the Brazilian Amazon

Diego Henrique de Souza Monte de Almeida*

Deyse de Souza Dantas*

Rafael Lima Resque*

Keren Hapuque da Silva Souza**

Mayumi Teixeira Yoshida***

893

O Mundo da Saúde, São Paulo - 2018;42(4): 893-916
Profile of blood donors and seroepidemiology of dengue..

Abstract

Dengue is considered the most important clinical arbovirus. Cases of transmission by blood transfusion and contaminated donors have already been described previously. Considering this reality, this study aimed to investigate the seroepidemiological profile of dengue in blood donors at the Blood Bank of the State of Amapá (HEMOAP), as well as the socio-epidemiological and donation profiles of the participants. In the period from May to June 2017, 298 blood samples were subsequently tested for IgM and IgG antibodies against dengue using immunochromatography and PCR analysis for the detection of the virus and its serotypes. Information on donation type and donor type was acquired through the HEMOAP database. Participants also answered a socio-epidemiological questionnaire. Among the participants in the survey, the majority were male, aged 18-29 years old, completed high school, privately employed workers, with a monthly family income of one to three minimum wages. Most were repeat donors as well as replacement donations. Regarding the antibody test, three samples (1%) showed reactive results for the IgM antibody against dengue, four (1.3%) reactions for IgG and two (0.7%) reactions for both antibodies. The virus was not identified in any of the samples analyzed. No significant frequency of anti-dengue antibodies has been detected in donors, however, studies such as these help in understanding this disease, as well as enriching the debate on the risk of possible transmission of dengue by blood transfusion.

Keywords: Blood Bank. Dengue. Serology. PCR.

INTRODUCTION

Of the arboviruses with the largest distribution and with the largest number of cases, dengue is considered one of the most important, spread worldwide, mainly in the American and Asian continents. Around 2.5 billion people in the world live in countries endemic to the disease, almost all located in the tropical zone of the planet, and 50 to 100 million people a year end up contracting the virus¹.

Dengue virus, a *Flavivirus* of the Flaviviridae

family, has four known serotypes, DENV-1, DENV-2, DENV-3, DENV-4. The main vector of dengue, and other Arboviruses such as Yellow Fever, Zika and Chikungunya, is the *Aedes aegypti* mosquito. However, other mosquitoes of the genus *Aedes*, such as *A. albopictus*, *A. polynesiensis* and *A. scutellaris*, although of wild and zoophilic characteristics, are included as secondary vectors in some regions of the world^{1,2}.

In recent years, however, there have been

DOI: 10.15343/0104-7809.20184204893916

*Federal University of Amapá - Postgraduate Program in Health Sciences - PPGCS / UNIFAP. Macapá / AP, Brazil.

**Estácio College de Macapá. Macapá-AP, Brazil.

***Federal University of Amapá. Macapá-AP, Brazil.

E-mail: dhsmalmeida@gmail.com

increasing numbers of reports presenting cases that demonstrate how vector transmission is not the only form of transmission and spread of the Dengue virus. Transmission of DENV during childbirth and gestation, accidents with piercings, exposure of fluids to the mucosa of health professionals and bone marrow transplantation have been reported or suggested in several studies^{3,4}.

Suspected cases of DENV transmission by blood transfusion and donors contaminated with the virus have been described in countless countries over the years. The first known report was in Hong Kong in 2002⁵. Subsequently, studies have pointed out the presence of DENV in blood donors in other countries, such as Honduras, Brazil and Puerto Rico^{6,7,8}.

Currently, the two main legislations governing hemotherapy in Brazil are Mandate No. 158, of February 4, 2016, which redefines the technical regulation of hemotherapy procedures, and RDC/ANVISA No. 75, of May 2, 2016, which deals with Good Practices in Blood Banking. Among the items that stand out are clinical screening and laboratory screening for bloodborne diseases.

Clinical screening is of fundamental importance because it identifies possible situations that can be a risk for blood transfusion, either to the donor or to the recipient of the blood. The laboratory screening for diseases uses several techniques and functions to identify possible pathologies transmitted by the blood sample of the donor. Currently, the diseases that are required to be examined are Hepatitis B, Hepatitis C, Chagas Disease, HIV, Syphilis and HTLV I/II. In regions endemic of Malaria with active transmission, research is also carried out on this disease^{9,10}.

Although studies such as those of Linnen (2008), Mohammed (2008) and Sabino (2015) demonstrate the presence of the virus in less than 1% of the samples even in periods of an epidemic, the characteristic of having a large spread through the population, as well as a high number of asymptomatic carriers and the importance of vector transmission for the complication of the clinical picture of dengue has been fueling an intense debate in the

scientific community about the importance and relevance of DENV transmission by blood transfusion and its inclusion or not in laboratory screening^{11,12}.

Therefore, the objective of this study was to investigate the seroepidemiological profile of dengue in blood donors at the Blood Bank of the State of Amapá (HEMOAP), Brazil, as well as to describe the socioepidemiological and blood donation profile of the study participants through the application of questionnaire, database analysis, serological screening for IgM and IgG antibodies and identification of the dengue virus, as well as their serotypes by molecular diagnosis.

MATERIALS AND METHODS

The study complied with the ethical considerations set forth in Resolution 466/2012 of the National Health Council. All participants were informed about the research and signed the Informed Consent Form.

This study was approved by the Ethics Committee in Research of the Federal University of Amapá according to opinion No. 2.036.844/2017.

Part of the budget of this study was funded by the Research Program for the SUS - PPSUS, through the call for proposals No. 003/2016 - FAPEAP, jointly managed by the National Council for Scientific and Technological Development – CNPQ, Ministry of Health and Research Support Foundation of the State of Amapá – FAPEAP.

This was a descriptive, cross-sectional study carried out with 298 blood donor individuals who accepted to participate in the study and were considered eligible for donation by clinical and epidemiological screening in May and June 2017 at the Institute of Hematology and Hemotherapy of Amapá - HEMOAP. With its headquarters located in the city of Macapá, capital of Amapá, HEMOAP is the only blood

center in the entire state, being therefore the exclusive supplier of blood components for all hospitals in the state's health network, both public and private.

As criteria for inclusion of the donor in the study the following items were considered: Blood donor over 18 years; suitable for clinical screening (without clinical or epidemiological restrictions); with a complete donation (without disruption of donation and/or volume of inadequately collected blood bags) and agreed to participate in the study. Exclusion criteria were: Blood donor under 18 years; unfit for clinical screening (with clinical or epidemiological restrictions); with an incomplete donation (with discontinuation of donation and/or volume of inadequate collection of blood) and with insufficient, lipemic or hemolyzed sample.

Data regarding gender, age, schooling, professional occupation, monthly family income and previous diagnosis of dengue were obtained through a questionnaire prepared by the authors of this study and completed by the donor.

However, for greater security and trustworthiness of the answers, a researcher was present during the filling of the questionnaire to resolve any doubts that the research participant had. Donor type and blood donation type data from donors from this study were obtained from the database of the Hemodynamic Services Management System - *HEMOVIDA*, a program used by HEMOAP.

Blood samples were collected in 5 mL vacuum collection tubes containing anticoagulant solution (EDTA) at the time of blood donation, along with the other tubes collected for the donor's laboratory tests. The samples were then centrifuged at 3000 rpm for 20 min to obtain plasma in the Serology Laboratory, and the immunochromatography tests using the InterKit Dengue IgG/IgM (*Katal Biotecnológica Indústria e Comércio Ltda.*) for the detection of IgM and IgG antibodies against dengue virus were performed.

For the molecular diagnosis of the dengue virus in this study the test proposed by Lanciotti *et al.* (1992) with modifications was used.

This technique is based on the use of specific primers for Dengue virus (D1 and D2) and primers specific serotypes (TS1, TS2, TS3 and TS4) for the characterization of different dengue serotypes¹² (Table 1).

In this study, for the extraction of viral RNA the ZR Viral RNA kit (*Zymo Research*) was used. Synthesis of the complementary DNA was performed using the Platens Transcriber RNase H-cDNA First Strand kit (*Sinapse Inc.*). For the PCR from the cDNA of each sample synthesized in the previous step, 4µL of the 5x FIREPOL® Master Mix (12.5 mM MgCl₂) (*Solis BioDyne*), 2 µL of the D1-specific primer and the same amount as the D2 primer, 2 µL of cDNA-containing sample and 18 µL of DNase-free water. The reaction occurred under the following conditions: 35 cycles of denaturation (94°C for 30 sec.), annealing of primers (55°C for 1 min.) and amplification (72°C for 2 min.).

At the end of this step, 10µL of the final PCR product of each sample were submitted to 1% agarose gel electrophoresis stained with Ethidium Bromide and visualized under ultraviolet light.

The positive samples, that is, those that presented the expected size band for the amplified fragment in the gel, would go to a second PCR, this time using the first specific serotypes TS1, TS2, TS3 and TS4 in substitution to the D2-specific primer, with the reaction occurring under the following conditions: 20 cycles of denaturation (94°C for 30 sec.), annealing of primers (55°C for 1 min.) and amplification (72°C for 2 min). Again, 10µL of the final PCR product from each sample was subjected to 1% agarose gel electrophoresis stained with Ethidium Bromide and visualized under ultraviolet light. Identification of each dengue serotype was by observation on the gel of the expected band sizes for each amplified fragment.

To tabulate the data, statistical calculations and graphing were performed in Microsoft Excel 2016 and SPSS version 21. For analysis of the association between the IgM and IgG responses for dengue and the other analyzed variables, Chi-Square was used with Yates corrections.

Table 1 – Primers used in the technique of Lanciotti et al. (1992), for the identification of the dengue virus and its serotypes.

| PRIMERS | SEQUENCES | GENOMIC POSITION | AMPLIFICATION PRODUCT SIZE (BP*) |
|---------|------------------------------------|------------------|----------------------------------|
| D1 | 5'TCAATATGCTGAAACGCGCGAGAAACCG-3' | 134-161 | 511 |
| D2 | 5'TTGCACCAACAGTCAATGTCTTCAGGTTC-3' | 616-644 | 511 |
| TS1 | 5'-CGTCTCAGTGATCCGGGGG-3' | 568-586 | 482 (D1 e TS1) |
| TS2 | 5'-CGCCACAAGGGCCATGAACAG-3' | 232-252 | 119 (D1 e TS2) |
| TS3 | 5'-TAACATCATCATGAGACAGAGC-3' | 400-421 | 290 (D1 e TS3) |
| TS4 | 5'-CTCTGTTGTCTTAAACAAGAGA-3' | 506-527 | 392 (D1 e TS4) |

Source: Lanciotti et al. (1992) *BP: Base Pairs.

RESULTS

Of the 298 participating donors, the majority reported being male (65.4%) and 18-29 years old (41.95%). Regarding the level of schooling, 38.6% had completed High School. Regarding the type of professional occupation, 25.5% were Private Employees and 35.9% had a monthly family income of one to three minimum wages (minimum wage of R\$ 937). More information on socio-epidemiological

and donation aspects can be observed in table 2.

Regarding the Type of Donor, the majority, 75.2%, were repeat donors, that is, they had already made other donations previously. Regarding the Type of Donation, 64.4% were Replacement Donations, when the donor directs his donation of blood to replace the blood bags used by a specific patient (Table 2).

Table 2 – Socio-epidemiological aspects and blood donations of donors participating in the study. Macapá, AP-2017.

| Socio-epidemiological aspects | Total Donors (%) |
|-------------------------------|------------------|
| Sex | |
| Male | 195 (65.4%) |
| Female | 97 (32.6%) |
| Did Not Respond | 6 (2%) |

to be continued...

...continuation - Table 1

| Socio-epidemiological aspects | Total Donors (%) |
|--|------------------|
| Age (years) | |
| 18-29 | 125 (41.95%) |
| 30-39 | 86 (28.36%) |
| 40-49 | 52 (17.45%) |
| 50-59 | 21 (7.05%) |
| 60-69 | 4 (1.34%) |
| Did Not Respond | 10 (3.36%) |
| Education | |
| Elementary School Incomplete | 23 (7.7%) |
| Elementary School Complete | 5 (1.7%) |
| High School Incomplete | 18 (6%) |
| High School Complete | 115 (38.6%) |
| Higher Education Incomplete | 67 (22.5%) |
| Higher Education Complete | 42 (14.1%) |
| Specialization | 19 (6.4%) |
| Did Not Respond | 9 (3%) |
| Professional Occupation | |
| Private Employee | 76 (25.5%) |
| Public Employee | 69 (23.3%) |
| Self Employed | 65 (21.8%) |
| Paid Intern / Fellow | 5 (1.7%) |
| Required military, care or religious service | 1 (0.3%) |
| Student | 32 (10.7%) |
| Does not work | 44 (14.8%) |
| Did Not Respond | 6 (2%) |

to be continued...

...continuation table 2

| Socio-epidemiological aspects | Total Donors (%) |
|---------------------------------|------------------|
| Monthly Family Income | |
| Up to a minimum wage * | 106 (35.6%) |
| One to three minimum wages | 107 (35.9%) |
| Three to five minimum wages | 43 (14.4%) |
| Five to fifteen minimum wages | 26 (8.7%) |
| More than fifteen minimum wages | 6 (2%) |
| Did Not Respond | 10 (3.4%) |
| Type of Donor | |
| Repeat Donor | 224 (75.2%) |
| First time donating | 74 (24.8%) |
| Type of Donation | |
| Voluntary | 106 (35.6%) |
| Replacement | 192 (64.4%) |

Source: Authors. Minimum wage salary of R \$ 937.00.

The 298 samples collected from the donors participating in the study were analyzed for IgM and IgG antibodies against the dengue virus. Of these, three samples (1%) had IgM reactions results, four (1.3%) IgG reactions and two (0.7%) reactions for both antibodies. Details of the socioepidemiological aspects and donor donation reactions for dengue can be seen in table 3.

Table 3 – Relation of the socioepidemiological aspects and blood donor donations with reactive results for IgM and/or IgG against the dengue virus. Macapá, AP-2017.

| Socio-epidemiological aspects | Total donors | | |
|-------------------------------|--------------|-----|-----------|
| | IgM | IgG | IgM + IgG |
| Sex | | | |
| Male | 3 | 2 | 1 |
| Female | - | 2 | 1 |

to be continued...

...continuation - Table 3

| Socio-epidemiological aspects | Total donors | | |
|--------------------------------|--------------|-----|-----------|
| | IgM | IgG | IgM + IgG |
| Age (years) | | | |
| 18-29 | 1 | 1 | - |
| 30-39 | - | 2 | 2 |
| 40-49 | 1 | - | - |
| 50-59 | 1 | 1 | - |
| Education | | | |
| Elementary School Incomplete | 1 | 1 | - |
| High School Complete | 1 | 1 | 1 |
| Higher Education Incomplete | 1 | - | - |
| Higher Education Complete | - | 1 | - |
| Specialization | - | 1 | 1 |
| Professional Occupation | | | |
| Private Employee | 2 | - | 1 |
| Public Employee | - | 1 | 1 |
| Self Employed | - | 2 | - |
| Student | 1 | - | - |
| Does not work | - | 1 | - |
| Monthly Family Income | | | |
| Up to a minimum wage * | 2 | 2 | - |
| One to three minimum wages | 1 | 1 | 1 |
| Three to five minimum wages | - | 1 | - |
| Five to fifteen minimum wages | - | - | 1 |
| Type of Donor | | | |
| Repeat Donor | - | 3 | 2 |
| First time donating | 3 | 1 | - |
| Type of Donation | | | |
| Voluntary | 1 | 3 | - |
| Replacement | 2 | 1 | 2 |

Source: Authors. Minimum wage salary of R\$ 937.00.

Regarding the molecular research of the dengue virus, of the 298 samples analyzed in the present study, it was not possible to identify the presence of the virus in any of them through the PCR technique.

In the analysis of socio-epidemiological variables and blood donation at the 5% level,

the p-value found was not significant in all of them. The Chi-square association test between the variables and IgM and IgG reactions results against dengue virus showed that there is no evidence of association in the distribution of socio-epidemiological variables and blood donation vs. IgM or IgG. (Table 4).

Table 4 – Socio-epidemiological and blood donation variables and the respective p-values found.

| Variable | p-Value* | |
|-------------------------|----------|-------|
| | IgM | IgG |
| Sex | 0.462 | 0.316 |
| Age | 0.846 | 0.958 |
| Education | 0.745 | 0.160 |
| Professional Occupation | 0.676 | 0.972 |
| Family income | 0.876 | 0.976 |
| Type of donor | 0.237 | 0.537 |
| Type of donation | 0.416 | 0.636 |

Source: Authors. *P-value = 5% = 0.05.

DISCUSSION

The data obtained, which demonstrated a predominance of male donors, are compatible with those observed historically in Brazil and presented in the 5th Bulletin of Hemotherapeutic Production¹⁴ and in works such as those by Moura *et al.*, Brener *et al.* and Santos e Macedo^{15,16,17}.

Data from WHO¹⁸ also show the prevalence of male blood donations, pointing out that only about 30% of donations are made by women. Because of this difference, several campaigns have been attempting to increase women's participation in blood collection

As to age, the data found in this study are close to those described in other studies^{14,15,16,17}, which also show a drop in the number of donors as their age advances. WHO¹⁸, points out that proportionately more young people donate blood in low- and middle-income countries. Moura *et al.*¹⁵ observed that this peculiarity may be the result of educational campaigns that have a more positive impact on young people, since they would not yet be permeated with misconceptions about blood

donation and, consequently, would be more receptive to educational actions.

High School Completion was the most found schooling according to the Profile of the Brazilian Blood Donor¹⁹, a result similar to this one. Moura *et al.*¹⁵ also found a similar result and pointed to the possibility of greater schooling to help raise awareness of the individual's social role, making donor recruitment campaigns more sensitive and also becoming loyal and habitual donors. Also, according to the Profile of the Brazilian Blood Donor¹⁹, "Employee" was the highest percentage of responses among donors interviewed regarding Professional Occupation, however, the same does not distinguish between the public and private sectors. Even so, when analyzing the data of the groups "Private Employee" and "Public Employee" it is possible to observe that the result is similar.

As for the Monthly Family Income, the Brazilian Association of Blood Banks²⁰ points out that about 60% of blood donors earn up to 3 minimum wages. Adding the data of the

Family Income groups of one salary and one to three minimum salaries, we reached 71.5%, a result above that shown by ABBS. Brener *et al.*¹⁶ also analyze the donor's income, but through the observation of the *per capita* income of the residents of the interviewed donor's residence. Even so, it is possible to observe in the article that the smallest income range is where most donor subjects of the study were found; a result similar to that observed in this study.

Although national data point to the same relationship between repeat and first-time donors, the percentages are different. According to Brasil¹⁴, 58.1% are repeat donors and 41.9% are donors for the first time. A donor base grounded on repeat donors is the most recommended because it ensures sufficient and safe blood coverage¹⁸. Another important factor observed is that repeat donors present a greater knowledge about the care they should take in relation to their health and behavior, resulting in a lower index of incapacity in clinical screening when compared to first-time donors¹⁴.

In Brasil, Voluntary Donations appear with 50.25% and Replacement Donations with 49.22%. Autologous Donations were also observed (0.53%), that is, when the donation is made by the patient himself for his exclusive use¹⁴.

This result is the opposite of what was observed in this study, where the majority of donations were replaced. Autologous donations were not observed in this study. Voluntary donation of blood is perceived by the international medical community as the safest since there would be no motivation or gain on the part of the donor that led to the omission of information or fraud in the clinical screening process. On the other hand, replacement donations are considered less safe because, in the search to help a relative or friend, the donor may try to circumvent the screening process^{14,18}.

With regard to the socio-epidemiological data, as we have seen, the results found in this study indicate that the HEMOAP donor profile is close to that observed nationally.

However, in relation to blood donation data, the results found in HEMOAP are of concern, since a donor base consisting predominantly of voluntary blood donations made by repeat donors is expected and recommended, which is a different situation from that found in the blood center of Amapá.

Regarding the findings of the IgM and IgG reactive samples against dengue virus, Ribas-Silva and Eid²¹, when analyzing 213 blood donors treated at Campo Mourão Field Hospital - Paraná, Brazil, found 1.4% of IgG reactive samples against dengue, a value close to that found in this study. In turn, they found no IgM reactive samples. Harif *et al.*²², when analyzing samples from 360 blood donors in northern Malaysia, found 4.2% of dengue IgM reactive samples, 39.2% IgG reactions and 2.8% IgM and anti-dengue IgG reactions. In Gao *et al.*'s²³ study, when testing 1685 samples from blood donors from the Guangxi, China Blood Center, they identified 0.36% IgM reactive samples and 0.42% IgG reactions for dengue.

In primary infection of dengue, the appearance of IgM antibodies usually occurs about 3 to 6 days after the onset of disease symptoms, reaching high levels in about two weeks, remaining detectable for up to two months and then disappearing. We can therefore assume that the IgM reactive samples in this study came from donors recently infected with dengue virus^{1,24}.

In primary infection of dengue, IgG antibodies appear in about 7 to 10 days, rising in the convalescence period and then decreasing, persisting throughout life and conferring specific serological immunity to the patient. In a secondary infection, the production of IgG antibodies already starts in the first days of infection, reaching levels higher than those of a primary infection, appearing before IgM antibodies. Reactive IgG samples from this study may belong to donors who had been infected with the virus for a certain period of time or who are at the beginning of a secondary infection^{1,24}.

In primary infections, as the disease progresses, the presence of the two groups of

antibodies, IgM and IgG anti-dengue can be observed. In a secondary infection of dengue, high levels of IgG appear before IgM antibodies and thus remain with the appearance of this class of antibodies. Both cases, advanced primary infection or secondary infection, may be related in the reactive IgM/IgG samples found in this study^{1,24}.

Given the absence of the dengue virus in the analyzed samples, it can be inferred that there was no danger of transmission of the dengue virus in the blood bags donated by the research participants, thus making any action to guarantee the safety of unnecessary blood donation. Levi²⁵, when analyzing the literature on the subject, based on the work of Sabino *et al.*⁸, raised questions about the real severity of transmission of dengue by blood transfusion, whether due to the low occurrence of donor contamination or the apparent difficulty of the virus in establishing the disease when inoculated by other pathways other than a vector, questioning the need for laboratory screening for dengue due to the high costs and complexities already present in blood screening.

The absence of the virus observed in this study was expected when compared to other studies, where no samples were identified with

the virus present or showed a low percentage of samples positive for the dengue virus.

In the work of Mohammed *et al.*⁷, samples of 16,521 blood donors in Puerto Rico were analyzed, of which 12 (0.07%) were positive for the dengue virus. Linnen *et al.*⁶, in a study carried out in several countries analyzed in Honduras 2,994 blood donors, finding nine (0.30%) positive for the dengue virus. In Brazil, 4,858 donor samples were analyzed, three (0.06%) were positive; in Australia, 5,879 donor samples were analyzed, with no sample showing the presence of the dengue virus.

Sabino *et al.*⁸, in a study carried out in Brazil, counting on 39,194 samples from donors from Rio de Janeiro and Recife found 0.51% of samples positive for the dengue virus in Rio de Janeiro and 0.80% positive samples in Recife. Gal *et al.*²³, in testing 1685 samples from blood donors from the Guangxi Blood Center, China, did not identify the presence of the dengue virus in any of the samples.

As for the analysis of the association between the IgM and IgG responses for dengue and the other analyzed variables, the reactive cases are homogeneously distributed across all items of the variables, so it is not possible to point out any of them as relevant to the donor who presents reactive results for dengue.

CONCLUSION

The socio-epidemiological profile of the donors, a collateral result of this research, was close to that found in the literature and observed in Brazil, the majority were males, aged 18-29 years, completed high school, private employee, with a monthly family income from one to three minimum wages. Repeat donors were the majority as well as replacement donations.

In this study, it was not possible to detect a considerable frequency of anti-dengue antibodies in the donors nor the presence of the virus in the samples. Thus, it was not possible

to establish an association between socio-epidemiological and donor variables and IgM and IgG responses to dengue. Nevertheless, it is possible to observe from the data found in this study that the need for implantation of tests for the detection of dengue virus may not be necessarily a priority, especially when taking into account the adjustment of expenditure against the decrease of resources present in all sectors of the Brazilian State.

With the findings of this work, we hope to enrich the knowledge about the socioepidemiological and donation aspects

of blood donors, as well as broaden the debate about the real risk of a possible blood transfusion transmission of the dengue virus and the impacts that this possibility can bring on the Brazilian and global hemotherapy practice.

FUNDING: Part of the budget of this study was financed by the Research Program for SUS - PPSUS, through the call for proposals No. 003/2016 - FAPEAP, jointly managed by the National Council for Scientific and Technological Development - CNPQ, Ministry of Health and Research Support Foundation of the State of Amapá - FAPEAP

REFERENCES

- 1 World Health Organization - WHO. Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention, and control. Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases. Geneva: WHO Press. 2009; 147 p.
- 2 Kraemer, MUG; Sinka, ME; Duda, KA; Mylne, A; Shearer, FM; Barker, CM; Moore, CG; Carvalho, RG; Coelho, GE; Bortel, WV; Hendrickx, G; Schaffner, F; Elyazar, IRF; Teng, HJ; Brady, OJ; Messina, JP; Pigott, DM; Scott, TW; Smith, DL; Wint, GRW; Golding, N; Hay, SI. The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*. *eLife*. 2015; 3 (8347): 1–18.
- 3 Chen, LH; Wilson, ME. Nosocomial Dengue by Mucocutaneous Transmission. *Emerging Infectious Diseases*. 2005; 11 (5):775.
- 4 Punzel, M; Korukluoglu, G; Caglayki, DY; Menemenlioglu, D; Bozdog, SC; Tekgündüz, E; Altuntas, F; Campos, RM; Burden, B; Günther, S; Tappe, D; Cadar, D; Schimidt-Chanasit, J. Dengue virus transmission by blood stem cell donor after travel to Sri Lanka, 2013. *Emerging Infectious Diseases*. 2014; 20 (8): 1366-69.
- 5 Chuang, V; Wong, TY; Leung, YH; Ma, E; Law, YL; Tsang, O; Chan, KM; Tsang, I; Que, TL; Yung, R; Liu, SH. Review of dengue fever cases in Hong Kong during 1998 to 2005. *Hong Kong Medical Journal*. 2008; 14 (3): 170–77.
- 6 Linnen, JM; Vinelli, E; Sabino, EC; Tobler, LH; Hyland, C; Lee, TH; Kolk, DP; Broulik, AS; Collins, CS; Lanciotti, RS; Busch, MP. Dengue viremia in blood donors from Honduras, Brazil, and Australia. *Transfusion*. 2008; 48 (7): 1355–62.
- 7 Mohammed, H; Linnen, JM; Muñoz-Jordán, JL; Tomashek, K; Foster, G; Broulik, AS; Petersen, L; Strammer, SL. Dengue virus in blood donations, Puerto Rico, 2005. *Transfusion*. 2008; 48 (7): 1348–54.
- 8 Sabino, EC; Loureiro, P; Lopes, ME; Capuni, L; McClure, C; Chowdhury, D; Di Lorenzo-Oliveira, C; Oliveira, LC; Linnen, JM; Lee, TH; Gonzalez, .; Brambilla, D; Kleinman, S; Busch, MP; Custer, B. Transfusion-Transmitted Dengue and Associated Clinical Symptoms During the 2012 Epidemic in Brazil. *Journal of infectious diseases*. 2015; 213 (8): 1–10.
- 9 Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução - RDC nº 75, de 02 de maio de 2016. Dispõe sobre as Boas Práticas no Ciclo do Sangue. Brasília, 2016. Retirado de: <http://www.cevs.rs.gov.br/upload/arquivos/201612/16110014-resolucao-rdc-75.pdf>
- 10 Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 158, de 04 de fevereiro de 2016. Redefine o regulamento técnico de procedimentos hemoterápicos. Brasília, 2016. Retirado de: <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2016/abril/12/PORTARIA-GM-MS-N158-2016.pdf>.
- 11 Tomashek, KM; Margolis, HS. Dengue: A potential transfusion-transmitted disease. *Transfusion*. 2011; 51 (8): 1654–60.
- 12 Levi, JE. Dengue Virus and Blood Transfusion. *Journal of infectious diseases*. 2015; 213 (8): 9–11.
- 13 Lanciotti, RS; Calisher, CH; Gubler, DJ; Chang, GJ; Vorndam, AV. Rapid Detection and Typing of Dengue Viruses from Clinical Samples by Using Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction. *Journal of Clinical Microbiology*. 1992; 30 (3): 545-51.
- 14 Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. 5º Boletim de Produção Hemoterápica. Brasília, 2018. p. 1-13.
- 15 Moura, AS; Moreira, CT; Machado, CA; Vasconcelos Neto, JAV; Machado, MFAS. Doador de sangue habitual e fidelizado: fatores motivacionais de adesão ao programa. *Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde*. 2006; 19 (2): 61-67.
- 16 Brener, S; Caiaffa, WT; Sakurai, E; Proietti, FA. Fatores associados à aptidão clínica para a doação de sangue – determinantes demográficos e socioeconômicos. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*. 2008; 30 (3): 108-13.
- 17 Santos, MC; Macedo, LC. Prevalência e perfil de doadores de sangue realizadas pelo hemonúcleo de Campo Mourão-PR. *Revista Saúde e Pesquisa*. 2013; 6 (1): 8-12.
- 18 World Health Organization - WHO. Blood safety and availability. Geneva, 2018. Retirado de: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs279/en/>.
- 19 Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Perfil do Doador de Sangue Brasileiro. Brasília, 2004 Retirado de: http://www.anvisa.gov.br/hotsite/doador_sangue/pdsbfiles/introducao.htm
- 20 Associação Brasileira de Bancos de Sangue - ABBS. Curitiba, 2018. Doação de Sangue. Retirado de: <http://www.abbs.com.br/doacao-de-sangue/>.
- 21 Ribas-Silva, RC; Eid, AA. Pesquisa de anticorpos antidengue em doadores de sangue. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*. 2012; 34 (3): 193-95.
- 22 Harif, NF; Kader, ZSA; Joshi, SR; Yousoff, NM. Seropositive status of dengue virus infection among blood donors in North Malaysia. *Asian Journal of Transfusion Science*. 2014; 8 (1): 64.

- 23 Gao, Z; Zhang, Y; Yang, Y; Xu, M; Liao, P; He, W; Xu, J; Liu, Y; He, M. Dengue virus infections among blood donors in Guangxi of China, 2013–2014. *Transfusion Medicine*. 2017; 28 (3): 236–42.
- 24 Brasil. Ministério da Saúde. Dengue: diagnóstico e manejo clínico - adulto e criança. 5 ed. Brasília: Ministério da Saúde. 2016; 58 p.
- 25 Levi, JE. Dengue Virus and Blood Transfusion. *Journal of infectious diseases*. 2015; 213 (8): 9-11.

Perfil dos doadores de sangue e da soroepidemiologia da dengue em um hemocentro na Amazônia brasileira

Diego Henrique de Souza Monte de Almeida*

Deyse de Souza Dantas*

Rafael Lima Resque*

Keren Hapuque da Silva Souza**

Mayumi Teixeira Yoshida***

905

O Mundo da Saúde, São Paulo - 2018;42(4): 893-916
Perfil dos doadores de sangue e da soroepidemiologia da dengue..

Resumo

A dengue é considerada a arbovirose de maior importância clínica. Casos de transmissão por transfusão sanguínea e doadores contaminados já foram descritos anteriormente. Considerando-se essa realidade, este estudo objetivou investigar o perfil soroepidemiológico da dengue em doadores de sangue no Hemocentro do Estado do Amapá (HEMOAP), assim como o perfil socioepidemiológico e de doação dos participantes. Foram coletadas, no período de maio à junho de 2017, 298 amostras de sangue posteriormente testadas para anticorpos IgM e IgG contra a dengue utilizando teste imunocromatográfico e análise por PCR para a detecção do vírus e seus sorotipos. Informações sobre tipo de doação e tipo de doador foram adquiridas por meio do banco de dados do HEMOAP. Os participantes também responderam um questionário socioepidemiológico. Entre os participantes da pesquisa a maioria foi do sexo masculino, com idade entre 18-29 anos, ensino médio completo, empregado assalariado privado, com renda familiar mensal de um a três salários mínimos. Doadores de repetição foram a maioria assim como doações de reposição. Quanto a pesquisa de anticorpos, três amostras (1%) apresentaram resultado reagente para o anticorpo IgM contra a dengue; quatro (1,3%) reagentes para IgG e duas (0,7%) reagente para ambos os anticorpos. Não foi identificado o vírus em nenhuma das amostras analisadas. Não foi detectada uma considerável frequência de anticorpos anti dengue nos doadores, no entanto, estudos como esses ajudam na compreensão dessa doença além de enriquecer o debate sobre o risco de uma possível transmissão da dengue por transfusão sanguínea.

Palavras-chave: Hemocentro. Dengue. Sorologia. PCR.

INTRODUÇÃO

Das arboviroses com maior distribuição e com o maior número de casos, a dengue é considerada uma das mais importantes, com distribuição mundial, principalmente nos continentes americanos e asiático. No mundo por volta de 2,5 bilhões de pessoas vivem em países endêmicos para a doença, quase todos localizados na zona tropical do planeta, e de 50 à 100 milhões de pessoas por ano acabam contraíndo o vírus¹.

O vírus da dengue, um *Flavivirus* da família *Flaviviridae*, possui quatro sorotipos conhecidos, DENV-1, DENV-2, DENV- 3, DENV-4. O principal vetor da dengue, e de

outras Arboviroses como a Febre Amarela, Zika e o Chikungunya, é o mosquito *Aedes aegypti*. No entanto, outros mosquitos do gênero *Aedes*, como os *A. albopictus*, *A. polynesiensis* e *A. scutellaris*, embora de características selvagens e zoofílicas, são incluídos como vetores secundários em algumas regiões do mundo^{1,2}.

Nos últimos anos, no entanto, vêm aumentando o número de relatos apresentando casos que demonstram como a transmissão vetorial não é a única forma de transmissão e propagação do vírus da Dengue. Transmissão do DENV durante o parto e gestação, acidentes com perfurocortantes, exposição de fluidos

DOI: 10.15343/0104-7809.20184204893916

* Universidade Federal do Amapá – Programa de Pós Graduação em Ciências da Saúde – PPGCS/UNIFAP. Macapá/AP, Brasil.

** Faculdade Estácio de Macapá. Macapá-AP, Brasil.

***Universidade Federal do Amapá. Macapá-AP, Brasil.

E-mail: dhsmalmeida@gmail.com

a mucosa de profissionais de saúde e por transplante de medula óssea já foram relatados ou sugeridos em diversos estudos^{3,4}.

Casos suspeitos de transmissão do DENV por transfusão sanguínea e de doadores contaminados com o vírus já foram descritos em inúmeros países ao longo dos anos. O primeiro relato conhecido ocorreu em Hong Kong, no ano de 2002⁵. Posteriormente, estudos apontaram a presença do DENV em doadores de sangue em outros países, como Honduras, Brasil e Porto Rico^{6,7,8}.

Atualmente, as duas principais legislações que regem a prática hemoterápica no Brasil são as Portaria nº 158, de 04 de fevereiro de 2016, que redefine o regulamento técnico de procedimentos hemoterápicos, e a RDC/ANVISA nº 75, de 02 de maio de 2016, que dispõe sobre as Boas Práticas no Ciclo do Sangue. Entre os itens que se destacam estão a triagem clínica e a triagem laboratorial para doenças transmitidas por sangue.

A triagem clínica possui importância fundamental, pois nela são identificadas possíveis situações que podem trazer risco a transfusão sanguínea, quer seja para o doador, quer seja para o receptor do sangue. A triagem laboratorial para doenças utiliza-se de várias técnicas e tem como função a identificação na amostra de sangue do doador de possíveis patologias transmitidas pelo sangue. Atualmente as doenças obrigatoriamente pesquisadas são a Hepatite B, Hepatite C, Doença de Chagas, HIV, Sífilis e HTLV I/II. Em regiões endêmicas de Malária com transmissão ativa, é realizada a pesquisa dessa doença também^{9,10}.

Embora estudos como os de *Linnen*, 2008, *Mohammed*, 2008 e *Sabino*, 2015, demonstrem a presença do vírus em menos de 1% das amostras mesmo em períodos de epidemia, a característica de possuir uma grande distribuição pela população, assim como um número elevado de portadores assintomáticos e a importância da transmissão vetorial para a complicação do quadro clínico da dengue vem alimentando um intenso debate na comunidade científica sobre a importância e relevância da transmissão do DENV por transfusão sanguínea e sua inclusão ou não na

triagem laboratorial^{11,12}.

Portanto, o objetivo dessa pesquisa foi investigar o perfil soroepidemiológico da dengue em doadores de sangue no Hemocentro do Estado do Amapá (HEMOAP), Brasil, assim como descrever o perfil socioepidemiológico e de doação de sangue dos participantes da pesquisa, por meio da aplicação de questionário, análise de banco de dados, triagem sorológica para os anticorpos IgM e IgG e identificação do vírus da dengue, assim como seus sorotipos por diagnóstico molecular.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo atendeu as considerações éticas dispostas na resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde. Todos os participantes foram esclarecidos sobre a pesquisa e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Amapá conforme parecer nº 2.036.844/2017.

Parte do orçamento deste estudo foi financiado pelo Programa de Pesquisa para o SUS – PPSUS, por meio do edital Nº. 003/2016 - FAPEAP, gerido conjuntamente pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPQ, Ministério da Saúde e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amapá – FAPEAP

Tratou-se de um estudo transversal, descritivo, tendo como população de estudo 298 indivíduos doadores de sangue que aceitaram participar do estudo e foram considerados aptos para doação pela triagem clínica e epidemiológica, no período de maio e junho de 2017 no Instituto de Hematologia e Hemoterapia do Amapá – HEMOAP. Com sua sede localizada na cidade de Macapá, capital do Amapá, o HEMOAP é o único hemocentro em todo o estado, sendo portanto o fornecedor exclusivo de hemocomponentes para todos os hospitais da rede de saúde amapaense, tanto públicos quanto privados.

Como critérios de inclusão do doador no

estudo foram considerados os seguintes itens: Doador de sangue maior de 18 anos; apto pela triagem clínica (sem restrições de caráter clínico ou epidemiológico); com doação completa (sem interrupção da doação e/ou com volume da bolsa de sangue coletada inadequado) e que aceite participar do estudo. Como critérios de exclusão foram considerados: Doador de sangue menor de 18 anos; inapto pela triagem clínica (com restrições de caráter clínico ou epidemiológico); com doação incompleta (com interrupção da doação e/ou com volume da bolsa de sangue coletada inadequado) e com amostra insuficiente, lipêmica ou hemolisada.

Os dados referentes a sexo, idade, escolaridade, ocupação profissional, renda familiar mensal e diagnóstico prévio de dengue foram obtidos por meio de questionário elaborado pelos autores deste estudo e preenchido pelo doador. No entanto, para maior segurança e fidedignidade das respostas, um pesquisador estava presente durante o preenchimento do questionário para dirimir quaisquer dúvidas que o participante da pesquisa tivesse. Os dados de tipo de doador e tipo de doação de sangue dos doadores objetos desse estudo foram obtidos do banco de dados do Sistema de Gerenciamento em Serviços de Hemoterapia – HEMOVIDA, programa utilizado pelo HEMOAP.

As amostras de sangue foram coletadas em tubos de coleta à vácuo de 5 ml contendo solução anticoagulante (EDTA) no momento da doação de sangue, juntamente com os demais tubos coletados para a realização da triagem laboratorial do doador. Em seguida as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm por 20 min para a obtenção de plasma no Laboratório de Sorologia, sendo então realizado os testes imunocromatográficos InterKit Dengue IgG/IgM da marca Katal Biotecnológica Indústria e Comércio Ltda. para a detecção de anticorpos IgM e IgG contra o vírus da dengue.

Para o diagnóstico molecular do vírus da dengue neste trabalho foram utilizado o teste proposto por Lanciotti *et al.* (1992) com modificações.

Essa técnica tem como base a utilização de primers específicos para o vírus da Dengue (D1

e D2) e primers sorotipos específicos (TS1, TS2, TS3 e TS4) para a caracterização dos diferentes sorotipos da dengue¹² (Tabela 1).

Neste trabalho, para a extração de ARN viral utilizou-se o kit ZR Viral RNA, da marca Zymo Research. A síntese do ADN complementar foi realizada utilizando-se o kit Platus Transcriber RNase H – cDNA First Strand, da marca Sinapse Inc. Para a realização da PCR a partir do ADNc de cada amostra sintetizado na etapa anterior, utilizou-se como reagente 4µL do 5x FIREPOL® Master Mix (12,5 mM MgCl₂), da empresa Solis BioDyne, 2µL do primer específico D1 e mesma quantidade do D2, 2µL de amostra contendo ADNc e 18µL de água livre de ADNase. A reação ocorreu nas seguintes condições: 35 ciclos de desnaturação (94°C por 30 seg.), anelamento dos primers (55°C por 1 min.) e extensão (72°C por 2 min.).

Finalizando essa etapa, 10µL do produto final da PCR de cada amostra foram submetidos a eletroforese em gel de agarose a 1% corado com Brometo de Etídio e visualizados sob luz ultravioleta.

As amostras positivas, ou seja, que apresentaram no gel banda de tamanho esperado para o fragmento amplificado, seguiriam para uma segunda PCR, dessa vez utilizando os primers sorotipos específicos TS1, TS2, TS3 e TS4 em substituição ao primer específico D2, com a reação ocorrendo nas seguintes condições: 20 ciclos de desnaturação (94°C por 30 seg.), anelamento dos primers (55°C por 1 min.) e extensão (72°C por 2 min.).

Novamente, 10µL do produto final da PCR de cada amostra foram submetido a eletroforese em gel de agarose a 1% corado com Brometo de Etídio e visualizados sob luz ultravioleta. A identificação de cada sorotipo do dengue se deu por observação no gel das bandas de tamanho esperados para cada fragmento amplificado.

Foram utilizados para a tabulação de dados, cálculos estatísticos e construção de gráficos os softwares Microsoft Excel 2016 e SPSS versão 21. Para análise da associação entre as variáveis respostas IgM e IgG para dengue e as demais variáveis analisadas foi utilizado o Qui-Quadrado com correções de Yates.

Tabela 1 – Primes utilizados na técnica de Lanciotti *et al.* (1992), para a identificação do vírus da dengue e seus sorotipos.

| PRIMES | SEQUÊNCIAS | POSIÇÃO NO GENOMA | TAMANHO DO PRODUTO DE AMPLIFICAÇÃO (PB*) |
|--------|-------------------------------------|-------------------|--|
| D1 | 5'TCAATATGCTGAAACGCGCGAGAAACCG-3' | 134-161 | 511 |
| D2 | 5'TTGCACCAACAGTCAATGTCTTCAGG TTC-3' | 616-644 | 511 |
| TS1 | 5'-CGTCTCAGTGATCCGGGGG-3' | 568-586 | 482 (D1 e TS1) |
| TS2 | 5'-CGCCACAAGGGCCATGAACAG-3' | 232-252 | 119 (D1 e TS2) |
| TS3 | 5'-TAACATCATCATGAGACAGAGC-3' | 400-421 | 290 (D1 e TS3) |
| TS4 | 5'-CTCTGTTGTCTTAAACAAGAGA-3' | 506-527 | 392 (D1 e TS4) |

Fonte: Lanciotti *et al.* (1992) *pb: Pares de Base.

RESULTADOS

Dos 298 doadores participantes da pesquisa a maioria declarou ser do sexo masculino (65,4%) e possuir entre 18-29 anos de idade (41,95%). Em relação ao grau de escolaridade, 38,6% possuíam Ensino Médio Completo. Quanto ao tipo de ocupação profissional, 25,5% responderam serem Empregados Assalariados Privado e 35,9% possuíam Renda familiar mensal de um a três salários mínimos (salário mínimo de R\$937). Mais informações

dos aspectos socioepidemiológicos e de doação podem ser observados na tabela 2.

Em relação ao Tipo de Doador a maioria, 75,2%, eram doadores de repetição, isso é, já haviam realizado outras doações anteriormente. Quanto ao Tipo de doação, 64,4% foram Doações de Reposição, quando o doador direciona a sua doação de sangue para reposição das bolsas de sangue usadas por um paciente específico (Tabela 2).

Tabela 2 – Aspectos Socioepidemiológicos e de doação dos doadores de sangue participantes da pesquisa. Macapá, AP – 2017.

| Aspectos socioepidemiológicos | Total de doadores (%) |
|-------------------------------|-----------------------|
| Sexo | |
| Masculino | 195 (65,4%) |
| Feminino | 97 (32,6%) |
| Não Responderam | 6 (2%) |

continua...

...continuação - Tabela 2

| Aspectos socioepidemiológicos | Total de doadores (%) |
|--|-----------------------|
| Idade (anos) | |
| 18-29 | 125 (41,95%) |
| 30-39 | 86 (28,36%) |
| 40-49 | 52 (17,45%) |
| 50-59 | 21 (7,05%) |
| 60-69 | 4 (1,34%) |
| Não Responderam | 10 (3,36%) |
| Escolaridade | |
| Ensino Fundamental Incompleto | 23 (7,7%) |
| Ensino Fundamental Completo | 5 (1,7%) |
| Ensino Médio Incompleto | 18 (6%) |
| Ensino Médio Completo | 115 (38,6%) |
| Ensino Superior Incompleto | 67 (22,5%) |
| Ensino Superior Completo | 42 (14,1%) |
| Especialização | 19 (6,4%) |
| Não Responderam | 9 (3%) |
| Ocupação Profissional | |
| Empregado Assalariado Privado | 76 (25,5%) |
| Empregado Assalariado Público | 69 (23,3%) |
| Autônomo | 65 (21,8%) |
| Estagiário Remunerado/bolsista | 5 (1,7%) |
| Serviço militar obrigatório, assistencial ou religioso | 1 (0,3%) |
| Estudante | 32 (10,7%) |
| Não trabalha | 44 (14,8%) |
| Não Responderam | 6 (2%) |

...continuação - Tabela 2

| Aspectos socioepidemiológicos | Total de doadores (%) |
|---------------------------------|-----------------------|
| Renda Familiar Mensal | |
| Até um salário mínimo* | 106 (35,6%) |
| Um a três salários mínimos | 107 (35,9%) |
| Três a cinco salários mínimos | 43 (14,4%) |
| Cinco a quinze salários mínimos | 26 (8,7%) |
| Mais de quinze salários mínimos | 6 (2%) |
| Não Responderam | 10 (3,4%) |
| Tipo de Doador | |
| Doador de Repetição | 224 (75,2%) |
| Primeira vez doando | 74 (24,8%) |
| Tipo de Doação | |
| Voluntária | 106 (35,6%) |
| Reposição | 192 (64,4%) |

Fonte: Os autores. *Salário Mínimo de R\$937,00.

As 298 amostras coletadas dos doadores participantes da pesquisa foram analisadas para os anticorpos IgM e IgG contra o vírus da dengue. Dessas, três amostras (1%) apresentaram resultado reagente para IgM, quatro (1,3%) reagente para IgG e duas (0,7%) reagente para ambos os anticorpos. Detalhes dos aspectos socioepidemiológicos e de doação dos doadores reagentes para dengue podem ser observados na tabela 3.

Tabela 3 – Relação dos aspectos socioepidemiológicos e de doação dos doadores de sangue com resultados reagentes para IgM e/ou IgG contra o vírus da dengue. Macapá, AP – 2017.

| Aspectos Socioepidemiológicos | Total de doadores | | |
|-------------------------------|-------------------|-----|-----------|
| | IgM | IgG | IgM + IgG |
| Sexo | | | |
| Masculino | 3 | 2 | 1 |
| Feminino | - | 2 | 1 |

continua...

| Aspectos Socioepidemiológicos | Total de doadores | | |
|---------------------------------|-------------------|-----|-----------|
| | IgM | IgG | IgM + IgG |
| Idade (anos) | | | |
| 18-29 | 1 | 1 | - |
| 30-39 | - | 2 | 2 |
| 40-49 | 1 | - | - |
| 50-59 | 1 | 1 | - |
| Escolaridade | | | |
| Ensino Fundamental Incompleto | 1 | 1 | - |
| Ensino Médio Completo | 1 | 1 | 1 |
| Ensino Superior Incompleto | 1 | - | - |
| Ensino Superior Completo | - | 1 | - |
| Especialização | - | 1 | 1 |
| Ocupação Profissional | | | |
| Empregado Assalariado Privado | 2 | - | 1 |
| Empregado Assalariado Público | - | 1 | 1 |
| Autônomo | - | 2 | - |
| Estudante | 1 | - | - |
| Não trabalha | - | 1 | - |
| Renda Familiar Mensal | | | |
| Até um salário mínimo* | 2 | 2 | - |
| Um a três salários mínimos | 1 | 1 | 1 |
| Três a cinco salários mínimos | - | 1 | - |
| Cinco a quinze salários mínimos | - | - | 1 |
| Tipo de Doador | | | |
| Doador de Repetição | - | 3 | 2 |
| Primeira vez doando | 3 | 1 | - |
| Tipo de Doação | | | |
| Voluntária | 1 | 3 | - |
| Reposição | 2 | 1 | 2 |

Fonte: Os autores. *Salário Mínimo de R\$937,00.

Quanto à pesquisa molecular do vírus da dengue, das 298 amostras analisadas no presente estudo, não foi possível identificar a presença do vírus em nenhuma delas através da técnica de PCR. Na análise das variáveis socioepidemiológicas e de doação de sangue, ao nível de 5%, o p-valor

achado foi não significativo em todas elas. O teste de associação de Qui-quadrado entre as variáveis e os resultados reagentes de IgM e IgG contra o vírus da dengue apontou que não existe evidências de associação na distribuição das variáveis socioepidemiológicas e de doação de sangue x IgM ou IgG. (Tabela 4).

Tabela 4 – Variáveis socioepidemiológicas e de doação de sangue e os respectivos p-valor encontrados.

| Variável | p-Valor* | |
|-----------------------|----------|-------|
| | IgM | IgG |
| Sexo | 0,462 | 0,316 |
| Idade | 0,846 | 0,958 |
| Escolaridade | 0,745 | 0,160 |
| Ocupação Profissional | 0,676 | 0,972 |
| Renda familiar | 0,876 | 0,976 |
| Tipo de doador | 0,237 | 0,537 |
| Tipo de Doação | 0,416 | 0,636 |

Fonte: Os autores. *p-Valor - 5% = 0,05.

DISCUSSÃO

Os dados obtidos, que demonstrou um predomínio de doadores do sexo masculino, são compatíveis com os observados historicamente no Brasil e apresentados no 5º Boletim de Produção Hemoterápica¹⁴ e em trabalhos como os de Moura *et al.*, Brener *et al.* e Santos e Macedo^{15,16,17}. Dados da WHO¹⁸, também demonstram a prevalência masculina no número de doações de sangue, apontando que somente por volta 30% das doações são feitas por mulheres. Devido a essa diferença, diversas campanhas vem tentando aumentar a participação feminina na captação de sangue

Quanto a idade, os dados encontrados nesta pesquisa são próximos aos descritos em outros trabalhos^{14,15,16,17}, que demonstram também uma queda no número de doadores com o avançar da idade. WHO¹⁸, aponta que proporcionalmente mais jovens doam sangue em países de baixa e média renda. Moura *et al.*¹⁵, observam que tal peculiaridade pode ser resultado das campanhas educativas que repercutem mais positivamente entre os jovens, pois os mesmos ainda não estariam imbuídos de ideias erradas sobre a doação de sangue, e por consequência, estariam mais receptivos a

ações educativas.

Ensino Médio Completo foi a escolaridade mais encontrada segundo o Perfil do Doador de Sangue Brasileiro¹⁹, resultado similar ao desta pesquisa. Moura *et al.*¹⁵, também encontraram resultado semelhante e apontam para a possibilidade de uma maior escolaridade ajudar na conscientização do papel social do indivíduo, tornando-o mais sensível as campanhas de captação de doadores e também acabam tornando-se doadores fidelizados e habituais. Também segundo o Perfil do Doador de Sangue Brasileiro¹⁹, “Empregado” foi o maior percentual de respostas entre os doadores entrevistados quanto a Ocupação Profissional, no entanto o mesmo não apresenta distinção entre os setores público e privado. Mesmo assim, ao analisarmos os dados dos grupos “Empregado assalariado privado” e “Empregado assalariado público” é possível observar que o resultado é semelhante.

Quanto a Renda Familiar Mensal, a Associação Brasileira de Bancos de Sangue²⁰ aponta que cerca de 60% dos doadores de sangue ganham até 3 salários mínimos. Somando-se os dados das faixas de Renda

Familiar de um salário e de um à três salários mínimos, chegamos a 71,5%, resultado acima do demonstrado pela ABBS. Brener *et al.*¹⁶, também analisam a renda do doador, mas por meio da observação da renda *per capita* dos moradores da residência do doador entrevistado. Mesmo assim, é possível observar no artigo que a menor faixa de renda é onde se encontra a maioria dos doadores objetos do estudo, resultado similar ao observado em neste trabalho.

Embora os dados nacionais apontem a mesma relação entre doadores de repetição e 1ª vez doando, as porcentagens são diferentes sendo, segundo Brasil¹⁴, 58,1% são doadores de repetição e 41,9% são pessoas doando pela 1ª vez. Uma base de doadores fundamentada em doadores de repetição é o mais recomendado pois assim asseguram uma cobertura suficiente e segura de sangue¹⁸. Outro fator importante observado é que os doadores de repetição apresentam um maior conhecimento sobre os cuidados que devem tomar em relação a sua saúde e seu comportamento, resultando assim em um menor índice de inaptidão na triagem clínica quando comparados a doadores de 1ª vez¹⁴.

No Brasil as Doações Voluntárias aparecem com 50,25% e as Doações de Reposição com 49,22%. É observado também 0,53% de Doações Autólogas, isso é, quando a doação é feita pelo próprio paciente para seu uso exclusivo¹⁴. Esse resultado é o oposto do observado neste estudo, onde doações de reposição foram a maioria. Doações autólogas não foram observadas neste pesquisa. A doação de sangue voluntária é percebida pela comunidade médica internacional como a mais segura, visto que não haveria motivações ou ganhos por parte do doador que levassem o mesmo a omitir informações ou fraudar o processo de triagem clínica. Por sua vez, doações de reposição são consideradas menos seguras pois, na busca por ajudar um parente ou conhecido o doador pode tentar burlar o processo de triagem^{14,18}.

No que diz respeito aos dados socioepidemiológicos, como observamos, os resultados encontrados nesta pesquisa

apontam que o perfil de doadores do HEMOAP se encontra próximo ao observado nacionalmente. No entanto em relação aos dados de doação de sangue, os resultados encontrados no HEMOAP preocupam, uma vez que é esperado, e recomendado, uma base de doações formada predominantemente por doações de sangue voluntárias feitas por doadores de repetição, situação diferente da encontrada no hemocentro do Amapá

Quanto aos achados das amostras reagentes para IgM e IgG contra o vírus da dengue, Ribas-Silva e Eid²¹, ao analisarem 213 doadores de sangue atendidos no Hemonúcleo de Campo Mourão - Paraná, Brasil, encontraram 1,4% de amostras reagentes para IgG contra a dengue, valor próximo ao encontrado em neste estudo. Por sua vez, não encontraram amostras reagentes para IgM. Harif *et al.*²², ao analisarem amostras de 360 doadores de sangue no norte da Malásia encontraram 4,2% de amostras reagentes para IgM contra a dengue, 39,2% reagentes para IgG e 2,8% reagentes para IgM e IgG anti dengue. Em seu trabalho, Gao *et al.*²³, ao testarem 1685 amostras de doadores de sangue do hemocentro de Guangxi, China, identificaram 0,36% amostras IgM reagentes e 0,42% IgG reagentes para dengue.

Na infecção primária da dengue o aparecimento de anticorpos IgM geralmente ocorrem por volta de 3 a 6 dias após o surgimento dos sintomas da doença, atingindo altos níveis por volta de duas semanas, permanecendo detectáveis por até dois meses e desaparecendo em seguida. Podemos supor portanto que as amostras IgM reagentes neste estudo, foram provenientes de doadores infectados recentemente pelo vírus da dengue^{1,24}.

Na infecção primária de dengue, anticorpos IgG surgem por volta de 7 a 10 dias, subindo no período de convalescência para então diminuir, persistindo por toda a vida e conferindo imunidade sorológica específica ao paciente. Em uma infecção secundária, a produção de anticorpos IgG já inicia nos primeiros dias de infecção, atingindo níveis mais elevados do que os de uma infecção primária, aparecendo antes dos anticorpos IgM. As amostras IgG reagentes

deste trabalho podem pertencer a doadores que se contaminaram com o vírus a um certo período de tempo ou que se encontram no início de uma infecção secundária^{1,24}.

Em infecções primárias, com o avançar dos dias de evolução da doença, pode-se observar a presença dos dois grupos de anticorpos, IgM e IgG anti dengue. Em uma infecção secundária da dengue, altos níveis de IgG aparecem antes dos anticorpos IgM e se mantêm assim mesmo com o aparecimento dessa classe de anticorpos. Ambos os casos, infecção primária avançada ou infecção secundária, podem ser relacionados nas amostras IgM/IgG reagentes encontradas neste estudo^{1,24}.

Diante da ausência do vírus da dengue nas amostras analisadas, pode-se inferir que não havia perigo de transmissão do vírus da dengue nas bolsas de sangue doadas pelos participantes da pesquisa, tornando assim qualquer ação para garantia da segurança da doação de sangue desnecessária. Levi²⁵ ao analisar a literatura sobre o tema, tendo como base o trabalho de Sabino *et al.*⁸, levanta questionamentos sobre a real gravidade da transmissão da dengue por transfusão sanguínea, quer seja pela baixa ocorrência de contaminação de doadores, quer seja pela aparente dificuldade do vírus em estabelecer a doença quando inoculado por outras vias que não a vetorial, questionando a necessidade de triagem laboratorial para dengue haja vista o alto custo e complexidades já presentes na triagem sanguínea.

A ausência de vírus observada neste trabalho era esperada quando comparado

com outros estudos, onde também não foram identificadas amostras com presença do vírus ou então apresentaram um percentual baixo de amostras positivas para o vírus da dengue.

No trabalho de Mohammed *et al.*⁷, foram analisadas amostras de 16.521 doadores de sangue em Porto Rico, dessas 12 (0,07%) foram positivas para o vírus da dengue. Linnen *et al.*⁶, em um estudo realizado em diversos países analisaram em Honduras 2.994 doadores de sangue, encontrando nove (0,30%) positivos para o vírus da dengue. No Brasil foram analisados 4.858 amostras de doadores, sendo três (0,06%) positivas; na Austrália foram analisadas 5.879 amostras de doadores, com nenhuma amostra apresentando a presença do vírus da dengue.

Sabino *et al.*⁸, em um estudo realizado no Brasil, contando com 39.194 amostras de doadores provenientes do Rio de Janeiro e Recife encontraram 0,51% de amostras positivas para o vírus da dengue no Rio de Janeiro e 0,80% de amostras positivas em Recife. Gal *et al.*²³, ao testarem 1685 amostras de doadores de sangue do hemocentro de Guangxi, China, não identificaram em nenhuma das amostras a presença do vírus da dengue.

Quanto a análise da associação entre as variáveis respostas IgM e IgG para dengue e as demais variáveis analisadas, os casos reagentes se distribuem de forma homogênea por todos os itens das variáveis, dessa forma não é possível apontar qualquer uma delas como relevante para o doador apresentar resultados reagentes para dengue.

CONCLUSÃO

O perfil socioepidemiológico dos doadores, resultado colateral desta pesquisa, se mostrou próximo do encontrado na literatura e observado no Brasil, sendo a maioria do sexo masculino, com idade entre 18-29 anos, ensino médio completo, empregado assalariado privado, com renda familiar mensal de um a três salários mínimos. Doadores de repetição

foram a maioria assim como doações de reposição.

Neste estudo não foi possível detectar uma considerável frequência de anticorpos anti dengue nos doadores nem a presença do vírus nas amostras. Dessa forma não foi possível estabelecer uma associação entre as variáveis sócioepidemiológicas e de doação e

as variáveis respostas IgM e IgG para dengue. Ainda assim, é possível observar a partir dos dados encontrados neste trabalho que a necessidade de implantação de testes para a detecção do vírus da dengue pode não ser uma necessidade prioritária, ainda mais quando se leva em consideração a readequação de gasto frente a diminuição de recursos presente em todos os setores do Estado brasileiro.

Com os achados deste trabalho, esperamos enriquecer o conhecimento sobre os aspectos socioepidemiológicos e de doação dos doadores de sangue, além de ampliar o debate sobre o real risco de uma possível transmissão por transfusão sanguínea do vírus da dengue e os impactos que tal possibilidade pode trazer sobre a prática hemoterápica brasileira e mundial.

FINANCIAMENTO: Parte do orçamento desse estudo foi financiado pelo Programa de Pesquisa para o SUS – PPSUS, através do edital Nº. 003/2016 - FAPEAP, gerido conjuntamente pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPQ, Ministério da Saúde e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amapá – FAPEAP

REFERÊNCIAS

1. World Health Organization - WHO. Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention, and control. Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases. Geneva: WHO Press. 2009; 147 p.
2. Kraemer, MUG; Sinka, ME; Duda, KA; Mylne, A; Shearer, FM; Barker, CM; Moore, CG; Carvalho, RG; Coelho, GE; Bortel, WV; Hendrickx, G; Schaffner, F; Elyazar, IRF; Teng, HJ; Brady, OJ; Messina, JP; Pigott, DM; Scott, TW; Smith, DL; Wint, GRW; Golding, N; Hay, SI. The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*. *eLife*. 2015; 3 (8347): 1–18.
3. Chen, LH; Wilson, ME. Nosocomial Dengue by Mucocutaneous Transmission. *Emerging Infectious Diseases*. 2005; 11 (5):775.
4. Punzel, M; Korukluoglu, G; Caglayki, DY; Menemenioglu, D; Bozdog, SC; Tekgündüz, E; Altuntas, F; Campos, RM; Burden, B; Günther, S; Tappe, D; Cadar, D; Schimidt-Chanasit, J. Dengue virus transmission by blood stem cell donor after travel to Sri Lanka, 2013. *Emerging Infectious Diseases*. 2014; 20 (8): 1366-69.
5. Chuang, V; Wong, TY; Leung, YH; Ma, E; Law, YL; Tsang, O; Chan, KM; Tsang, I; Que, TL; Yung, R; Liu, SH. Review of dengue fever cases in Hong Kong during 1998 to 2005. *Hong Kong Medical Journal*. 2008; 14 (3): 170–77.
6. Linnen, JM; Vinelli, E; Sabino, EC; Tobler, LH; Hyland, C; Lee, TH; Kolk, DP; Broulik, AS; Collins, CS; Lanciotti, RS; Busch, MP. Dengue viremia in blood donors from Honduras, Brazil, and Australia. *Transfusion*. 2008; 48 (7): 1355–62.
7. Mohammed, H; Linnen, JM; Muñoz-Jordán, JL; Tomashek, K; Foster, G; Broulik, AS; Petersen, L; Strammer, SL. Dengue virus in blood donations, Puerto Rico, 2005. *Transfusion*. 2008; 48 (7): 1348–54.
8. Sabino, EC; Loureiro, P; Lopes, ME; Capuni, L; McClure, C; Chowdhury, D; Di Lorenzo-Oliveira, C; Oliveira, LC; Linnen, JM; Lee, TH; Gonzalez, J; Brambilla, D; Kleinman, S; Busch, MP; Custer, B. Transfusion-Transmitted Dengue and Associated Clinical Symptoms During the 2012 Epidemic in Brazil. *Journal of infectious diseases*. 2015; 213 (8): 1–10.
9. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução - RDC nº 75, de 02 de maio de 2016. Dispõe sobre as Boas Práticas no Ciclo do Sangue. Brasília, 2016. Retirado de: <http://www.cevs.rs.gov.br/upload/arquivos/201612/16110014-resolucao-rdc-75.pdf>
10. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 158, de 04 de fevereiro de 2016. Redefine o regulamento técnico de procedimentos hemoterápicos. Brasília, 2016. Retirado de: <http://portalquivos.saude.gov.br/images/pdf/2016/abril/12/PORTARIA-GM-MS-N158-2016.pdf>.
11. Tomashek, KM; Margolis, HS. Dengue: A potential transfusion-transmitted disease. *Transfusion*. 2011; 51 (8): 1654–60.
12. Levi, JE. Dengue Virus and Blood Transfusion. *Journal of infectious diseases*. 2015; 213 (8): 9–11.
13. Lanciotti, RS; Calisher, CH; Gubler, DJ; Chang, GJ; Vorndam, AV. Rapid Detection and Typing of Dengue Viruses from Clinical Samples by Using Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction. *Journal of Clinical Microbiology*. 1992; 30 (3): 545-51.
14. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. 5º Boletim de Produção Hemoterápica. Brasília, 2018. p. 1-13.
15. Moura, AS; Moreira, CT; Machado, CA; Vasconcelos Neto, JAV; Machado, MFAS. Doador de sangue habitual e fidelizado: fatores motivacionais de adesão ao programa. *Revista Brasileira de Pesquisa em Saúde*. 2006; 19 (2): 61-67.
16. Brenner, S; Caiaffa, WT; Sakurai, E; Proietti, FA. Fatores associados à aptidão clínica para a doação de sangue – determinantes demográficos e socioeconômicos. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*. 2008; 30 (3): 108-13.
17. Santos, MC; Macedo, LC. Prevalência e perfil de doadores de sangue realizadas pelo hemonúcleo de Campo Mourão-PR. *Revista Saúde e Pesquisa*. 2013; 6 (1): 8-12.
18. World Health Organization - WHO. Blood safety and availability. Geneva, 2018. Retirado de: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs279/en/>.
19. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Perfil do Doador de Sangue Brasileiro. Brasília, 2004 Retirado de: http://www.anvisa.gov.br/hotsite/doador_sangue/pdsbfiles/introducao.htm
20. Associação Brasileira de Bancos de Sangue - ABBS. Curitiba, 2018. Doação de Sangue. Retirado de: <http://www.abbs.com.br/doacao-de-sangue/>.
21. Ribas-Silva, RC; Eid, AA. Pesquisa de anticorpos antidengue em doadores de sangue. *Revista Brasileira de Hematologia e*

Hemoterapia. 2012; 34 (3): 193-95.

22. Harif, NF; Kader, ZSA; Joshi, SR; Yousoff, NM. Seropositive status of dengue virus infection among blood donors in North Malaysia. Asian Journal of Transfusion Science. 2014; 8 (1): 64.

23. Gao, Z; Zhang, Y; Yang, Y; Xu, M; Liao, P; He, W; Xu, J; Liu, Y; He, M. Dengue virus infections among blood donors in Guangxi of China, 2013–2014. Transfusion Medicine. 2017; 28 (3): 236-42.

24. Brasil. Ministério da Saúde. Dengue: diagnóstico e manejo clínico - adulto e criança. 5 ed. Brasília: Ministério da Saúde. 2016; 58 p.

25. Levi, JE. Dengue Virus and Blood Transfusion. Journal of infectious diseases. 2015; 213 (8): 9-11.