

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
DIRETORIA REGIONAL DE BRASÍLIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE COLETIVA
ESPECIALIZAÇÃO EM VIGILÂNCIA SANITÁRIA

DANIEL ROBERTO CORADI DE FREITAS

AVALIAÇÃO DO RISCO DE TRANSMISSÃO TRANSFUSIONAL DE MALÁRIA EM QUATRO SERVIÇOS
DE HEMOTERAPIA DA ÁREA ENDÊMICA BRASILEIRA

BRASÍLIA

2010

DANIEL ROBERTO CORADI DE FREITAS

AVALIAÇÃO DO RISCO DE TRANSMISSÃO TRANSFUSIONAL DE MALÁRIA EM QUATRO SERVIÇOS
DE HEMOTERAPIA DA ÁREA ENDÊMICA BRASILEIRA

Monografia apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde Coletiva da Fiocruz-Brasília com requisito parcial para obtenção do título de Especialista e Regulação e Vigilância Sanitária.

**Orientador: Prof.a Dra. Elizabeth Carmen Duarte
Doutor em Epidemiologia e Bioestatística.**

Brasília

2010

Freitas, Daniel Roberto Coradi.

Avaliação do risco de transmissão transfusional de malária em quatro serviços de homoterapia da área endêmica brasileira / Daniel Roberto Coradi de Freitas. – Brasília: Fiocruz / Brasília, 2009.

Vi, 38 f. : il. ; 31 cm

Orientador: Elisabeth Carmen Duarte

Monografia (especialista) Fiocruz / Brasília / Pós-graduação em Saúde Coletiva, 2010.

Referências bibliográficas: f. 28-29

1. Malária. 2. Doadores de sangue. 3. Prevalência. 4. Epidemiologia. 5. Estudos de validação. 6. Vigilância sanitária – Tese. I. Duarte, Elisabeth Carmen. II. Fundação Oswaldo Cruz, Fiocruz-Brasília, Pós-graduação em Saúde Coletiva. III. Título

DANIEL ROBERTO CORADI DE FREITAS

**AVALIAÇÃO DO RISCO DE TRANSMISSÃO TRANSFUSIONAL DE MALÁRIA EM
QUATRO SERVIÇOS DE HEMOTERAPIA DA ÁREA ENDÊMICA BRASILEIRA**

Este Projeto de Pesquisa foi julgado e aprovado para obtenção
do grau de **Especialista em Regulação e Vigilância Sanitária** no
Programa de Pós-graduação em Saúde Coletiva da
Fiocruz-Brasília

Brasília, de de 20..... .

BANCA EXAMINADORA

Prof.a Dra. Elisabeth Carmen Duarte
Doutora em Epidemiologia
Universidade de Brasília
Orientador

Prof. Dr. Pedro Luis Tauil
Doutor em Medicina Tropical
Universidade de Brasília

Prof.a Dra Leila Posenato Garcia
Doutora em Epidemiologia
Universidade de Brasília

FREITAS, Daniel Roberto Coradi. **Avaliação do risco de transmissão transfusional de malária em quatro serviços de hemoterapia da área endêmica brasileira.** 50f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização) – Diretoria Regional de Brasília, Fundação Oswaldo Cruz, Brasília, 2010.

Resumo. A malária é endêmica na Amazônia brasileira. Nessa região, a incidência parasitária anual (IPA) vem se mantendo acima de 20 casos por 1.000 habitantes desde 2004. A transmissão vetorial pelo *Anopheles darlingi* é a principal via de infecção. Contudo, a transmissão induzida por transfusão de hemocomponentes representa um risco importante em áreas endêmicas e os casos relatados são frequentemente muito graves. A ocorrência de casos induzidos por transfusão pode ocorrer especialmente quando o doador, no momento da triagem clínica, está no período de incubação ou apresenta malária assintomática. A legislação brasileira proíbe a doação de sangue por indivíduos provenientes ou residentes de áreas endêmicas de alto risco (IPA>49 casos por 1.000 habitantes). Por outro lado, é permitida a doação por pessoas provenientes ou residentes de áreas de médio e baixo risco, desde que submetidos a teste hematoscópico. Para tanto, o teste de gota espessa é o mais utilizado. Estudos mostram que a gota espessa apresenta desempenho sete vezes menor que a PCR para identificação de casos assintomáticos ou com baixa parasitemia. Este projeto tem como objetivos: i) avaliar o risco de transmissão de malária transfusional em serviços de hemoterapia selecionados da Amazônia Legal pela determinação da prevalência de portadores assintomáticos ou em período de incubação para malária entre os doadores, ii) estimar a validade da triagem clínica e laboratorial dos serviços de hemoterapia selecionados, iii) analisar os fatores associados à prevalência de infecção por *Plasmodium sp* entre doadores previamente triados, iv) padronizar a detecção, pela PCR, de *Plasmodium sp* em *pool* de amostras de sangue, e v) realizar avaliação normativa dos serviços de hemoterapia selecionados, quanto à adesão às normas e critérios da Resolução da Diretoria Colegiada n°153 da ANVISA, para a triagem clínica e laboratorial de doadores de sangue sob risco de infecção por *Plasmodium sp* em áreas endêmicas. Serão selecionados serviços de hemoterapia dos estados do Acre, Amazonas e Rondônia. Nestes serviços de hemoterapia, uma amostra de 3.587 doações de sangue será avaliada (incluindo doadores aptos e não aptos). A detecção de ácidos nucleicos do plasmódio, por meio da PCR, será utilizada como padrão ouro para calcular a validade das triagens clínica e laboratorial dos serviços selecionados. As variáveis de interesse para o estudo serão coletadas a partir de entrevistas dos doadores (aptos e não aptos), realizadas com instrumento padronizado. Também serão utilizados os dados do cadastro de doadores e da triagem clínica e laboratorial executadas pelos serviços. As análises estatísticas serão realizadas com auxílio dos programas computacionais EPIINFO 3.5.1 e STATA 10.0. Os resultados permitirão avaliar o risco de transmissão de malária transfusional e propor medidas para aumento da segurança na utilização de hemocomponentes na região da Amazônia Legal.

Palavras-chave: malária, doadores de sangue, prevalência, epidemiologia, estudos de validação

Lista de abreviaturas e siglas.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CGSH – Coordenação Geral de Sangue e Hemoderivados

DIREB – Diretoria Regional de Brasília

FIOCRUZ – Fundação Osvaldo Cruz

HEMOBRAS – Empresa Brasileira de Hemoderivados e Biotecnologia

IPA – Incidência Parasitária Anual

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana

NOTIVISA – Sistema Nacional de Notificações de Eventos Adversos e Queixas Técnicas de Produtos sob Vigilância Sanitária

OR – *Odds ratio* ou Razão de Chances

PCR – Reação em cadeia da polimerase

PNCM – Programa Nacional de Controle da Malária

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada

SNH – Sistema Nacional de Hemovigilância

Sumário

1. Introdução.....	08
2. Justificativa.....	10
3. Objetivos.....	12
3.1 Objetivo geral.....	12
3.2 Objetivos específicos.....	12
4. Revisão da literatura.....	13
5. Metodologia.....	18
5.1 População e amostra de estudo.....	18
5.2 Técnica de detecção de ácidos nucleicos para diagnóstico de infecção por <i>Plasmodium sp</i>	19
5.3 Coleta, processamento e análise dos dados.....	20
5.3.1 Análise dos fatores associados à prevalência de <i>Plasmodium sp</i> em doadores de sangue.....	21
5.3.2 Validação da triagem clínica de doadores de sangue.....	22
5.3.3 Validação dos testes laboratoriais para diagnóstico de malária em doadores de sangue.....	22
5.4 Avaliação normativa das práticas dos serviços de hemoterapia.....	22
6. Aspectos éticos	23
7. Cronograma detalhado.....	24
8. Orçamento.....	25
Referências.....	29
Apêndice.....	30
Apêndice A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	31
Apêndice B – Questionário que será aplicado nos doadores.....	34
Apêndice C – Instrumento de avaliação normativa dos serviços.....	37

1. Introdução

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é o órgão federal responsável pela fiscalização dos serviços hemoterapia e vigilância da qualidade dos hemocomponentes. A terapia com hemocomponentes não é isenta de riscos. Por isso, critérios para triagem clínica e laboratorial de doadores de sangue vêm sendo definidos pela ANVISA, desde a sua criação, com o objetivo de reduzir os riscos associados à transfusão de sangue e componentes. Dentre as medidas regulatórias, destaca-se a produção de normas com o objetivo de reduzir a transmissão de doenças pelo sangue. Neste sentido, as Portarias Ministeriais e Resoluções da Diretoria Colegiada da ANVISA (RDC ANVISA) estabelecem critérios bastante sensíveis de triagem clínica e laboratorial de doadores, com definição de comportamentos de risco dos candidatos a doação e com obrigação de uso de testes laboratoriais de alta sensibilidade. A alta sensibilidade de um teste de triagem em doadores de sangue é o atributo mais importante para evitar resultados falsos negativos e, conseqüentemente, a transmissão de doenças. Testes com alta sensibilidade são exigidos na RDC ANVISA nº 153 de 2004 para a triagem de doadores para os marcadores da doença de Chagas, AIDS, Hepatites B e C, infecção pelo vírus HTLV e sífilis (Brasil, 2004).

No caso da malária, os primeiros critérios para triagem clínica de doadores de sangue, com vistas a reduzir os riscos da transmissão da doença pela via transfusional, foram definidos pela Lei 7.649 de 25/01/1988 (Brasil, 1988a). Neste mesmo ano, o Decreto-lei nº 95.721 de 11 de janeiro de 1988 (Brasil, 1988b) regulamentou a Lei anterior e restringiu para as regiões endêmicas a obrigatoriedade do teste para malária. Desde então, os critérios vem se mantendo com poucos aperfeiçoamentos. O teste laboratorial definido na RDC ANVISA nº 153 de 2004 é o teste hematoscópico (gota espessa ou esfregaço) (Brasil, 2004). Estudos mostram que este teste apresenta baixa sensibilidade em comparação com os testes de detecção de ácidos nucléicos, em especial para pacientes assintomáticos ou no período de incubação (Alves et al, 2002; Snounou, et al, 1993).

A ANVISA, a HEMOBRAS e a Coordenação Geral de Sangue e Hemoderivados (CGSH) do Ministério da Saúde estão avaliando a viabilidade da utilização de testes de detecção de ácidos nucléicos para os vírus da Hepatite C e vírus da imunodeficiência humana (HIV) no Brasil. A vantagem da utilização deste teste está na redução do período de “janela imunológica” em comparação com os testes de detecção e anticorpos.

Neste sentido, o presente projeto apresenta uma proposta de avaliação de risco de transmissão transfusional de malária baseado na utilização de teste de detecção de ácidos nucléicos para plasmódios em serviços de triagem de doadores de sangue. Pretende-se comparar os resultados obtidos com esse teste e os atuais parâmetros utilizados por serviços de hemoterapia na triagem clínica e laboratorial de doadores de sangue.

2. Justificativa

A malária é endêmica na Amazônia Brasileira. Em 2007, segundo dados extraídos do sítio eletrônico da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde, foram registrados 457.659 casos de malária no Brasil. Destes, 99% tem como local provável de infecção a Amazônia Legal, que inclui nove unidades federadas (todos os estados da Região Norte, além de Mato Grosso e Maranhão).

A principal via de transmissão da malária é a picada do mosquito do gênero *Anopheles*. No Brasil, a espécie *Anopheles darlingi* é o principal vetor da malária. Contudo, a transmissão induzida da malária por agulhas contaminadas (Andrade et al., 1991), transplante de órgãos (Yenen et al., 1994) e, principalmente, por transfusão de hemocomponentes (Olaya de Morales & Espinal Tejada, 1982; Andrade et al., 1991; Slinger et al., 2001; Mungai et al., 2001; Kitchen et al., 2005) tem sido relatada.

Choudhury & Phadke (2001), reconhecem que a malária transfusional é um problema para a Índia. Garraud et al. (2004) destacam que, embora incomuns, os casos de transmissão de malária por transfusão de hemocomponentes são freqüentemente letais. Em áreas endêmicas é provável que ocorra subnotificação de casos de transmissão transfusional de malária, principalmente devido à dificuldade de distinguir os casos induzidos dos casos de infecção natural (Fugikaha et al., 2007).

No Brasil, há poucos estudos sobre a prevalência de malária em doadores de sangue. Com relação à transmissão transfusional, destaca-se um estudo de 1991 de Andrade et al, sobre a transmissão induzida de malária no estado de São Paulo. Na região amazônica, não se tem conhecimento de relatos de casos recentes de malária por transmissão transfusional na literatura científica. Contudo, desde a criação do Sistema Nacional de Hemovigilância (SNH) em 2002, foram notificados quatro casos de malária transmitida pelo sangue, todos na região amazônica. Além disso, de acordo com avaliações do SNH feitas pela ANVISA (Brasil, 2009), o percentual estimado da subnotificação de eventos adversos pós-transfusionais no Brasil foi de 85,1% em 2007 e 78,2% em 2008.

O teste laboratorial definido nas Portarias Ministeriais e RDC ANVISA para a triagem de doadores de sangue é o teste hematoscópico (gota espessa ou esfregaço). Estudos mostram que este teste apresenta baixa sensibilidade, em especial para pacientes assintomáticos ou no período de incubação (Alves et al, 2002; Snounou, et al, 1993). A alta sensibilidade de um teste de triagem em doadores de sangue combinada com critérios rigorosos de triagem clínica são os meios mais importantes para se evitar transmissão de doenças pelo sangue.

Um teste laboratorial de alta sensibilidade para detecção de indivíduos infectados pelo *Plasmodium* é o teste que detecta fragmentos do ácido nucléico do parasito. Os custos para implantação desta modalidade de testes em serviços de hemoterapia vêm sendo avaliado pelo governo brasileiro. Portanto, estratégias de redução de custos devem ser pesquisadas como, por exemplo, a realização do teste em *pool* de amostras. A RDC ANVISA n°153 proíbe o uso de *pool* de amostras para a realização dos exames laboratoriais de triagem. Contudo, a RDC 153 esclarece que “caso surjam novas tecnologias que tenham aplicação comprovada pela ANVISA para utilização de *pool*, essa proibição será reconsiderada”.

Portanto, é necessário estabelecer o risco de transmissão transfusional da malária no Brasil, avaliar os métodos de triagem clínica e laboratorial utilizados em diferentes serviços de hemoterapia da Região Norte brasileira e avaliar estes serviços com relação à qualidade da triagem clínica de doadores para evitar esse modo de transmissão da malária.

Este estudo ainda poderá fornecer subsídio para a ANVISA aperfeiçoar seu marco regulatório no que diz respeito à avaliação do risco de transmissão de malária por transfusão de hemocomponentes na área endêmica brasileira.

3. Objetivos

3.1. Objetivo geral

Avaliar o risco de transmissão de malária por meio da transfusão de hemocomponentes em serviços de hemoterapia da região da Amazônia Legal.

3.2. Objetivos específicos

Estimar a prevalência de infecção por *Plasmodium sp* entre doadores (aptos e não aptos) de sangue, por meio de testes de detecção de ácidos nucléicos;

Padronizar a técnica para detecção de *Plasmodium sp*, por meio de testes de detecção de ácidos nucléicos, em *pool* de amostras de sangue e determinar a sua validade (sensibilidade e especificidade) em comparação ao teste em amostras individuais de sangue (padrão-ouro);

Estimar os valores preditivos (positivo e negativo) das triagens clínica e laboratorial para avaliar o risco de malária entre candidatos à doação de sangue, tendo como padrão-ouro o teste de detecção de ácidos nucléicos;

Identificar os fatores associados à prevalência de infecção por *Plasmodium sp* entre doadores de sangue (aptos e não aptos), visando aprimorar os critérios clínicos de exclusão;

Realizar avaliação normativa nos serviços de hemoterapia selecionados quanto à adesão às normas e critérios da RDC ANVISA nº153 para a triagem clínica e laboratorial de doadores de sangue sob risco de infecção por *Plasmodium sp*.

4. Revisão da literatura

A malária é uma doença parasitária com maior ocorrência nos países tropicais. Os protozoários das espécies *Plasmodium vivax*, *Plasmodium falciparum* e *Plasmodium malariae* são os principais causadores da doença. No ciclo biológico do *Plasmodium*, o homem é o hospedeiro intermediário. Os plasmódios causadores da malária são parasitos intracelulares de hemácias. O período de incubação varia de acordo com a espécie de plasmódio. Para o *Plasmodium falciparum*, de 8 a 12 dias; *Plasmodium vivax*, 13 a 17 dias e *Plasmodium malariae*, 18 a 30 dias (BRASIL, 2005).

As manifestações clínicas da malária estão relacionadas ao ciclo reprodutivo dos plasmódios. São caracterizadas por um período de infecção, que tem o ataque paroxístico como principal sintoma, um período de remissão, que dura cerca de 48 horas para infecções por *Plasmodium vivax* e *Plasmodium falciparum* e cerca de 72 horas para *Plasmodium malariae*, e um período toxêmico, que pode ocorrer em pacientes que não recebem tratamento adequado e oportuno, podendo evoluir para formas graves (BRASIL, 2005).

O diagnóstico laboratorial da doença é feito pela visualização direta do parasito (testes hematoscópicos de gota espessa ou esfregaço), por testes imunocromatográficos em fitas de nitrocelulose, que detectam antígenos dos plasmódios, ou pela detecção do ácido nucléico dos plasmódios (Alves et al., 2002).

No Brasil, segundo dados do Sistema Nacional de Notificações de Eventos Adversos e Queixas Técnicas de Produtos sob Vigilância Sanitária (Notivisa), desde que se iniciou o Sistema Nacional de Hemovigilância em 2002, foram notificados quatro casos de transmissão transfusional de malária, todos por *Plasmodium vivax*. Três dos casos eram neonatos que foram transfundidos com concentrado de hemácias fracionado de um único doador. O doador apresentou sintomas da malária após a doação, mas não reportou a condição aos serviços de hemoterapia. O serviço de hemoterapia relatou que o doador havia sido submetido ao teste parasitológico que resultou negativo (Simões, B.J., 2008; comunicação pessoal).

Na literatura científica, a prevalência de doadores de sangue com exame laboratorial positivo para *Plasmodium sp* varia de acordo com o tipo de teste utilizado e o local pesquisado. Em um estudo realizado na região amazônica brasileira, Fugikaha et al. (2007), utilizando teste de detecção de ácidos nucleicos do plasmódio, relataram uma prevalência média de 2,3%, variando de 1% a 3%, de testes positivos para *Plasmodium sp*. Nesse estudo, nenhum doador foi positivo utilizando-se teste imunocromatográfico (Optimal[®]). Em outro estudo brasileiro, Sáez-Alquézar et al. (1998), utilizando testes de visualização direta do parasito (QBC Test[®] e gota espessa), relataram que estudaram 1.481 doadores de áreas com diferentes intensidades de transmissão de malária e não encontraram doadores positivos para *Plasmodium sp*.

De fato, testes de visualização direta de plasmódios, especialmente os realizados em portadores assintomáticos, apresentam desempenho inferior ao teste de detecção de ácido nucleico. Alves et al. (2002), em um inquérito de prevalência entre ribeirinhos da Amazônia Brasileira, mostraram que a detecção de *Plasmodium* pela PCR foi cerca de sete vezes maior que a detecção por microscopia. Relataram ainda que indivíduos assintomáticos apresentaram baixa parasitemia, o que pode explicar o baixo desempenho da microscopia na detecção de *Plasmodium* para esses indivíduos.

Indivíduos infectados pelo *Plasmodium*, mas que não apresentam sintomas, contribuem para o risco para transmissão transfusional de malária.

Alves et al. (2002), utilizando a microscopia e a técnica de detecção do ácido nucleico do parasito, denominada *Polimerase Chain Reaction* (PCR), encontraram uma prevalência de até 64,8% de indivíduos assintomáticos infectados por *Plasmodium* em moradores ribeirinhos do rio Machado (Ji-Paraná) em Rondônia. No vilarejo de Portuchuelo à beira do rio Madeira, a prevalência de assintomáticos chegou a 31,7%. Assintomáticos infectados por *Plasmodium* tinham maior mediana de tempo vivendo na Amazônia ou vivendo no vilarejo. Além disso, as razões de chances (*odds ratios=OR*) de portadores assintomáticos pertencerem a uma faixa etária maior, em comparação com a faixa de 0-4 anos, foram de: $OR=4,00$ (faixa

etária 15-19), OR=3,67 (faixa etária 20-39) e OR=6,67 (faixa etária \geq 40), resultados estatisticamente significantes (Alves et al, 2002).

Doadores de sangue devem ter idade entre 18 e 65 anos, o que coincide com a faixa etária de grande prevalência de malária assintomática identificada em alguns estudos (Alves et al., 2002). Assim, esses portadores assintomáticos podem ser fontes de disseminação do *Plasmodium sp* para mosquitos vetores (Alves et al, 2002) e, possivelmente, também para receptores de hemocomponentes.

A inclusão do teste laboratorial para detecção da malária em todas as doações de sangue no Brasil foi estabelecida pela Lei 7.649 de 25 de janeiro de 1988. Contudo, o Decreto 95.721 de 11 de fevereiro de 1988 restringiu a obrigação do teste apenas para áreas endêmicas e determinou que o Ministério da Saúde estabelecesse estas áreas. Desde então, a legislação brasileira vem reafirmando as mesmas condutas e normas na triagem clínica e laboratorial para doadores com risco de infecção por *Plasmodium sp*, resultando na RDC ANVISA nº 153 (RDC 153; BRASIL, 2004).

A RDC 153 utiliza como critério para a classificação de risco das áreas geográficas a Incidência Parasitária Anual (IPA) fornecida por órgãos oficiais. Nas áreas endêmicas, que é a que abrange os estados da Amazônia Legal, é vedada a doação de sangue por indivíduos com antecedentes de malária nos últimos 12 meses ou que tenham sido suspeitos de malária nos últimos 30 dias. Também é vedada a doação de sangue por pessoas que residam ou tenham se deslocado para áreas de alto risco (IPA>49/1000) para malária. Candidatos à doação, residentes ou procedentes de áreas de médio ou baixo risco, devem ser submetidos a teste parasitológico hematoscópico.

A IPA na região amazônica brasileira vem se mantendo, desde 2004, acima de 20 casos por 1.000 habitantes. O Programa Nacional de Controle da Malária (PNCM) estabelece que uma IPA<10 casos por 1.000 habitantes classifica a área como baixo risco, IPA de 10 a 49 casos por 1.000 habitantes como médio risco e IPA>49 casos por 1.000 habitantes como alto risco.

Para serviços de hemoterapia localizados em áreas não endêmicas, o critério de exclusão adotado pela RDC 153 é mais rígido. Nesse caso, devem ser rejeitados para doação os candidatos que estiveram em área endêmica com transmissão ativa de malária nos últimos seis meses e/ou que tiveram malária ou residiram em áreas endêmicas nos últimos três anos. Nessas áreas não endêmicas, os testes parasitológicos de malária não são obrigatórios para triagem de doadores.

Além disso, independente da área em que o serviço de hemoterapia se localiza, a RDC 153 veta definitivamente os candidatos à doação de sangue que tiveram infecção por *Plasmodium malariae*.

Dessa forma, para a população que vive em áreas endêmicas, a IPA é o parâmetro utilizado, pela legislação, para aferir o risco de um doador transmitir malária a um receptor de hemocomponentes. A IPA é um indicador classicamente utilizado pelo PNCM para identificar áreas de risco, eleger medidas de intervenção e avaliar o controle da endemia. Não foi, portanto, estabelecido com a finalidade de selecionar doadores segundo risco de transmissão de malária aos receptores de hemocomponentes. Além disso, a IPA é divulgada anualmente pelo PNCM em meados de abril do ano seguinte ao ano de avaliação. Portanto, os serviços trabalham com critérios de risco epidemiológico que podem não ser válidos no momento da avaliação do doador.

Aliado a essas limitações, está o fato mencionado de que doadores assintomáticos e em período de incubação da infecção malárica apresentam baixas parasitemias, o que pode aumentar a probabilidade de resultado falso-negativo, especialmente no teste da gota espessa. Portanto, é relevante estudar o potencial do uso de técnicas de detecção de ácido nucléico em doadores de sangue de áreas endêmicas para reduzir o risco de transmissão da malária pela via transfusional. Testes de detecção de ácidos nucléicos são utilizados em serviços de hemoterapia nos EUA (CDC, 2004) para detecção do RNA do Vírus do Oeste do Nilo. No Brasil, pesquisadores e autoridades vêm discutindo a possibilidade de implantar testes de detecção de ácidos nucléicos para o Vírus da Hepatite C e HIV, levando-se em conta a análise de custo-efetividade destes testes.

A viabilidade da inclusão de testes de detecção de ácidos nucléicos para o *Plasmodium sp* deve ser avaliada. Essa medida pode aumentar a segurança transfusional e contribuir para a identificação e caracterização clínica e epidemiológica de portadores assintomáticos de malária.

Uma das estratégias possíveis para a redução do custo da introdução de testes de detecção de ácidos nucléicos é a realização do teste em *pool* de amostras. A RDC ANVISA nº153 proíbe o uso de *pool* de amostras para a realização dos exames laboratoriais de triagem. Contudo, A RDC 153 esclarece que “caso surjam novas tecnologias que tenham aplicação comprovada pela ANVISA para utilização de *pool*, essa proibição será reconsiderada”.

5. Metodologia

5.1. População e amostra de estudo

A população fonte do estudo é composta por doadores de sangue que se apresentarem nos serviços de hemoterapia selecionados. Todos os serviços de hemoterapia selecionados são localizados na região endêmica brasileira para malária – a Amazônia Legal. Baseado em critérios epidemiológicos, foram selecionados quatro serviços de hemoterapia aqui denominados H1, H2, H3 e H4. Por questões éticas, essas unidades serão mantidas em sigilo, porém os resultados do estudo serão conhecidos por cada serviços de hemoterapia estudado.

O período de coleta de dados será de até 30 dias consecutivos, ou até que se atinja o número estabelecido na amostra para cada estrato, entre os meses de julho de 2009 a março de 2010. Neste período, todos os doadores que se apresentaram para doação de sangue que expressarem concordância em participar do estudo serão incluídos na amostra.

Para o cálculo do tamanho da amostra, foram utilizados dados do Sistema de Informações Ambulatoriais do SUS (SIA/SUS). Para tanto, utilizou-se a alocação estratificada proporcional. Os estratos foram os quatro serviços de hemoterapia participantes da pesquisa e para cada um foi estimado o tamanho da amostra segundo os seguintes parâmetros: número de triagens clínicas de doadores realizadas mensalmente, número de doadores aptos, número de doadores inaptos. Os percentuais mensais de inaptidão foram obtidos dos próprios serviços participantes. Estimou-se uma prevalência de 3% de doadores aptos positivos para *Plasmodium sp*, utilizando a PCR como método de detecção de ácido nucléico (Fugikaha et al., 2007). Para os doadores inaptos, utilizou-se 5% de prevalência. Baseado nesses parâmetros, para um nível de confiança de 95% e erro relativo aceito de 20% (ou erro absoluto de 0,6%) em torno da prevalência esperada, o tamanho amostral mínimo requerido é de 3.587 doadores (aptos e inaptos) cujas amostras de sangue serão testadas. A distribuição dessa amostra segundo estratos está apresentada na Tabela 1.

Tabela 1: Distribuição de doadores (aptos e inaptos) e da amostra* a ser estudada segundo estratos.

Estratos (Serviços de hemoterapia selecionados)	Candidatos por mês	Aptos clínicos	Inaptos clínicos	Amostra aptos	Amostra inaptos
H1	963	626	337	207	246
H2	100	65	35	21	26
H3	4.238	3.306	932	1.092	681
H4	3.200	2.560	640	846	468
Total	8.501	6.557	1.944	2.166 (a)	1.421 (b)

*Tamanho mínimo total da amostra (a+b) n=3.587

Para compensar desistências, perdas ou insuficiência de material biológico adequado, a esse número será acrescido 10%, distribuídos para cada um dos estratos, resultando em uma amostra de 3.946 doadores.

5.2. Técnica de detecção de ácidos nucleicos para diagnóstico de infecção por *Plasmodium sp*

As amostras de sangue dos doadores selecionados para o estudo serão encaminhadas pelos serviços de hemoterapia a um laboratório de referência para realização dos testes de detecção de ácidos nucleicos. Os testes serão realizados no Laboratório de Investigação Científica da Faculdade de Ciências Médicas, da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), *campus* de Cuiabá. O transporte desse material biológico obedecerá a um protocolo de biossegurança pré-estabelecido.

Essas amostras de sangue serão, então, processadas para detecção de ácidos nucleicos para diagnóstico de infecção por *Plasmodium sp*, por meio do kit de

purificação de DNA genômico Puregene® (Gentra Systems, Minneapolis, Minnesota, USA), seguindo as instruções do fabricante (Snounou et al, 1993).

Como controle da extração, todas as amostras serão testadas para amplificação por reação de cadeia da polimerase (PCR) usando iniciadores dirigidos contra uma seqüência do *exon 7* do gene ABO, de grupo sanguíneo. Apenas as amostras que amplificarem o fragmento resultante (419-pb) deverão ser utilizadas no estudo.

A amplificação da região de interesse para gênero/espécie específico do *Plasmodium sp* será realizada através do método descrito por Snounou *et al*, 1993, com algumas modificações. Será utilizada a *nested PCR* tendo como alvo o gene do rRNA 18S, utilizando *primers* gênero e espécie-específicos, para a detecção das espécies *P. falciparum*, *P. vivax* e *P. malariae*. A visualização das bandas de amplificação se dará em gel de agarose 2%, corado com brometo de etídio.

Como etapa anterior ao uso da técnica de detecção de ácidos nucleicos para diagnóstico de infecção por *Plasmodium sp* nas amostras do estudo, será realizada a padronização da técnica em *pool* de amostras de sangue utilizando os procedimentos descritos a seguir.

Amostras de sangue de indivíduos com exame parasitológico sabidamente positivo (parasitemia <500 parasitas/ μ L) e sabidamente negativo segundo técnica de detecção de ácidos nucleicos para diagnóstico de infecção por *Plasmodium sp*, comporão *pools* de amostras de sangue a serem avaliadas. Para análise da validade da técnica e determinação da diluição adequada, serão utilizadas misturas de amostras negativas *versus* positivas nas seguintes diluições: 5:1, 10:1, 20:1, 30:1, 40:1, 50:1 e 100:1. O volume total do *pool* de amostras não poderá ser superior a 2,5 mL. A realização da PCR seguirá o mesmo método descrito acima. Para análise desses dados será construída uma Curva ROC (Receiver Operator Characteristic) o que apoiará a identificação da melhor diluição testada. Os protocolos de realização dos testes no presente estudo serão, então, adaptados de acordo com esses resultados da padronização da técnica obtidos nessa etapa.

5.3. Coleta, processamento e análise dos dados

As variáveis de interesse para o estudo serão coletadas a partir de entrevistas dos doadores (aptos e não aptos) realizadas com instrumento padronizado e a partir dos cadastramentos de doadores e dados de triagem clínica obtidos nos serviços de hemoterapia selecionados.

Esse estudo inclui variáveis demográficas e socioeconômicas, ocupacionais, clínicas e história de exposição. Além disso, os resultados de exames clínicos e laboratoriais realizados no momento e após a doação de sangue serão também incluídos na presente análise.

Esses dados serão coletados de maneira padronizada por meio de roteiro de entrevista previamente testado, sem a identificação dos sujeitos participantes do estudo, exceto pelo uso de códigos numéricos. Todos os dados serão então digitados no programa EPIDATA 3.2. e processados com auxílio do software STATA 10.0.

5.3.1. Análise dos fatores associados à prevalência de *Plasmodium sp* em doadores de sangue

Para as análises descritivas serão estimadas as prevalências e seus respectivos intervalos de confiança de 95%.

Nas análises bivariadas, serão empregados – segundo adequação de seus pressupostos - testes de qui-quadrado ou exato de Fisher para a comparação de proporções ou teste t-Student ou teste U de Mann-Whitney para variáveis contínuas.

Para análise multivariada dos fatores associados à prevalência da infecção por *Plasmodium sp* entre os doadores de sangue, serão utilizadas regressão logística ou de Poisson segundo critérios de ajuste dos modelos propostos. Técnicas de *stepwise* poderão ser utilizadas para seleção das variáveis que comporão o modelo final a ser analisado. Técnicas adequadas serão utilizadas para avaliar o ajuste dos modelos finais.

5.3.2. Validação da triagem clínica de doadores de sangue

A validade da triagem clínica de doadores de sangue para detecção da infecção por *Plasmodium sp* será analisada a partir da estimação da Sensibilidade, Especificidade, Valor Preditivo Negativo e Valor Preditivo Positivo e seus respectivos intervalo de confiança de 95%, tendo como padrão ouro o teste de detecção de ácidos nucléicos. Os exames laboratoriais serão executados de forma independente e cega.

5.3.3. Validação dos testes laboratoriais para diagnóstico de malária em doadores de sangue

A validade dos testes laboratoriais utilizados na detecção de infecção por *Plasmodium sp* pelos serviços selecionados, será estimada a partir do cálculo dos respectivos parâmetros de validade, a saber: especificidade, sensibilidade, valor preditivo positivo e negativo e razão de verossimilhança positiva e negativa. Também nessa análise será considerado padrão ouro o teste de detecção de ácidos nucléicos. Os exames laboratoriais serão executados de forma independente e cega.

5.4. Avaliação normativa das práticas dos serviços de hemoterapia

Os serviços de hemoterapia selecionados serão avaliados quanto à adesão às normas e critérios da RDC 153 para a triagem clínica e laboratorial de doadores de sangue sob risco de infecção por *Plasmodium sp*.

Para essa avaliação, um roteiro específico foi criado pelos pesquisadores, com base no guia de inspeção de serviços de hemoterapia da Anvisa, disponível no sítio eletrônico da instituição e na RDC 153. Nessa etapa serão avaliados aspectos referentes à estrutura, processos de trabalho e resultados do serviço.

6. Aspectos éticos

O protocolo da pesquisa está em conformidade com a Resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde que dispõe sobre aspectos éticos da pesquisa com seres humanos. Este projeto foi submetido à aprovação e autorização prévia dos diretores dos serviços de hemoterapia selecionados, assim como ao comitê de ética em pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília (UnB), do Hospital Universitário Julio Müller da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT) e de um dos serviços de hemoterapia participantes tendo sido aprovado (Anexo A).

No momento da triagem para a doação do sangue, os indivíduos serão informados dos objetivos e procedimentos do presente estudo, e convidados a participar. No caso de concordância, deverão assinar duas vias do termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice A). Os procedimentos do estudo não causam risco ou constrangimento aos sujeitos envolvidos.

Os resultados positivos no teste de detecção de ácidos nucléicos serão informados aos doadores que receberão os encaminhamentos pertinentes. Todos os doadores cujos exames resultarem em positivo serão orientados a comparecer ao centro de saúde ou unidade de saúde da família ou outro equipamento de saúde disponível para o tratamento da malária. As unidades básicas de saúde responsáveis pela área de residência dos casos serão notificadas, por telefone, da ocorrência do caso.

Os resultados dessa pesquisa serão amplamente divulgados após sua conclusão, preservando, porém, a identidade dos sujeitos e dos serviços envolvidos.

8. Orçamento

Itens de dispêndio

Item	Custo total (R\$)
Equipamentos e material permanente	Total: 31.276,00
Fotodocumentador para gel de agarose	18.000,00
Computador Desktop Pentium 4 2,8GHz 512 MB HD80 CDRW com teclado, monitor e mouse (2 unidades)	6.998,00
Computador Notebook Pentium M 512 MB HD40 CDRW (1 unidade)	4.999,00
Impressora a laser HP 1015 (1 unidade)	999
Estabilizador (3 unidades)	180
Pen drive (1 unidade)	100
Material de consumo (escritório e campo)	Total: 5.107,00
Papel (4 resmas)	60
Toner para a impressora (3 unidades)	1.197,00
Encadernações (8 unidades)	200
Material de escritório (diversos)	100
Cópias xerox (3.000 cópias)	300
Componentes ou peças de reposição de equipamentos (diversos)	1.000,00
Caixas arquivo (10 unidades)	50
Recursos logísticos para o trabalho de campo (mochilas, pranchetas etc)	200
Despesas eventuais (diversas)	2.000,00
Material de consumo (laboratório)	Total: 65.300,00
Kits Reagentes	10.600,00
Kits de Extração	12.400,00
Oligonucleotídeos	5.300,00
Placas de Reações	16.000,00
Reagentes Químicos	6.000,00

Material Plástico	8.000,00
Vidrarias	2.000,00
Material de coleta	3.000,00
Terceiros – pessoa física	Total: 16.818,00
Contratação de pessoal para o trabalho de campo (3 pesquisadores mestres, um para cada serviço de hemoterapia, contratados por até um mês: R\$ 4.000,00 por pesquisador)	9.000,00
Contratação de digitadores (2 digitadores: R\$ 1,50 por questionário digitado – dupla digitação: até 2.606 questionários)	7.818,00
Passagens	Total: 22.900,00
Passagem aérea Brasília/Porto Velho/Brasília (3 passagens)	3.780,00
Passagem aérea Brasília/Manaus/Brasília (3 passagens)	4.200,00
Passagem aérea Brasília/Rio Branco/Brasília (3 passagens)	4.800,00
Passagem aérea Brasília/Cuiabá/Brasília (2 passagens)	800
Passagem aérea Cuiabá/Brasília/Cuiabá (2 passagens)	800
Passagem aérea Porto Velho/Brasília/Porto Velho (2 passagens)	2.520,00
Passagem aérea Manaus/Brasília/Manaus (2 passagens)	2.800,00
Passagem aérea Brasília/Rio Branco/Brasília (2 passagens)	3.200,00
Diárias	Total: 11.645,46
Diárias para auxílios individuais no Brasil (R\$ 187,83 x 62 diárias)	11.645,46
Terceiros – pessoa jurídica	Total: 4.000,00

Contratação de serviços para transporte de amostras biológicas dos serviços de hemoterapia para a UFMT	4.000,00
Total geral: 157.046,46	

Estimativas dos recursos financeiros de outras fontes:

Instituição	Contrapartida	R\$
Laboratório de Investigação Científica da Faculdade de Ciências Médicas da UFMT	Material permanente: câmara de fluxo laminar para extração de DNA, câmara de fluxo laminar para o preparo dos reagentes de amplificação, termociclador de 96 tubos para a PCR, microcentrífugas, centrífuga refrigerada, freezer -80°C, transiluminador, leitor de ELISA, purificador de água mili-Q.	
	Recursos humanos (salários por 2 anos): Professor Doutor (coordenador geral do projeto)	48.000,00
	Recursos humanos (salários por 2 anos): Técnicos de laboratório	12.000,00
	Material de Consumo de laboratório (não contemplado no orçamento)	10.000,00
Universidade de Brasília Laboratório de Análises de Dados Epidemiológicos (em fase de implantação)	Recursos humanos (salários por 2 anos): Professor Doutor (coordenador do projeto)	48.000,00
	Recursos humanos (salários por 2 anos): Técnicos de informática	12.000,00
	Material de consumo (diversos não contemplados no orçamento)	10.000,00
Agência Nacional de Vigilância Sanitária	Despesas com diárias e passagens	40.000,00
	Recursos Humanos (salário por 2 anos) Profissional no cargo de especialista em Regulação	48.000,00
Total		R\$ 228.000,00

Referências

Alves, FP; Durlacher, RR; Menezes, MJ; Krieger, H; Silva, LHP; Camargo, EP. High prevalence of asymptomatic *Plasmodium vivax* and *Plasmodium falciparum* infections in native amazonian populations. **Am J Trop Med Hyg**, Cleveland, n. 66, v. 6, p. 641-648, 2002.

Andrade, JCR; Wanderley, DMV. Malária induzida no estado de São Paulo, Brasil. **Rev. Soc. Brás. Méd. Trop**, Uberaba, v. 24, n. 3, p. 157-162, 1991.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 153, de 2004. Determina o regulamento técnico para os procedimentos hemoterápicos, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 14 jun.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Boletim de Hemovigilância nº 2. Brasília, DF, maio de 2009. Disponível em <http://www.anvisa.gov.br/sangue/hemovigilancia/index.htm>.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia de vigilância epidemiológica: malária**. 6. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.

BRASIL. Lei 7.649, de 1988. Estabelece a obrigatoriedade do cadastramento dos doadores de sangue bem como a realização de exames laboratoriais no sangue coletado, visando a prevenir a propagação de doenças, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 24 jan 1988a.

BRASIL. Decreto 95.721, de 1988. Regulamenta a Lei nº 7.649, de 25 de janeiro de 1988 que “Estabelece a obrigatoriedade do cadastramento dos doadores de sangue bem como a realização de exames laboratoriais no sangue coletado, visando a prevenir a propagação de doenças, e dá outras providências”. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 12 fev 1988b.

CENTER for Disease Controle and Prevention. Transfusion-associated transmission of West Nile virus-Arizona, 2004. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep**, Atlanta, v. 53, n. 36, p. 842-844, set. 2004.

Fugikaha, E; Fornazari, PA; Penhalbel, RSR; Lorenzetti, A; Maroso, RD; Amoras, JT; Saraiva, AS; Silva, RU; Bonini-Domingos, CR; Mattos, LC; Rossit, ARB; Cavasini, CE; Machado, RLD. Molecular screening of *Plasmodium sp* asymptomatic carriers among transfusion centers from Brazilian Amazon region. **Rev Inst Med Trop S Paulo**, São Paulo, v. 49, n. 1, p. 1-4, 2007.

Garraud, O; Relave, J; Fiori, P; Perraut, R. Post-transfusion malaria: is the risk irreconcilable with biological silence? **Transfus Clin Biol**, Paris, v. 11, n. 2, p. 87-94, 2004.

Kitchen, AD; Barbara, JA; Hewitt, PE. Documented cases of post-transfusion malaria occurring in England: a review in relation to current and proposed donor-selection guidelines. **Vox Sang**, v. 89, n. 2, p.77-80, ago. 2005.

Mungai, M; Tegmeier, G; Chamberland, M; Parise, M. Transfusion-transmitted malaria in the United States from 1963 through 1999. **N Engl J Med**, Waltham, v. 344, n. 26, p.1973-1978, 2001.

Olaya de Morales P; Espinal Tejada, CA. Detection of antiplasmodium antibodies by ELISA in blood donors. **Biomédica**, Bogotá, v. 2, n. 2, p. 57-62, 1982.

Sáez-Alquézar, A; Ramos, AMSV; Santi, SM; Branquinho, MS; Kirchgatter, K; Cordeiro, IAC; Murta, M; Saraiva, JCP; Oliveira, SG; Bochetti, MGG; Pirolla, JA; Guerzoni, D; Chamone, DAF. Controle da malaria transfusional em região endêmica e não endêmica do Brasil. **Rev. Soc. Brás. Méd. Trop**, Uberaba, v. 31, n. 1, p. 27-34, 1998.

Slinger, R; Giulivi, A; Bodie-Collins, M; Hindieh, F; John, RS; Sher, G; Goldman, M; Ricketts, M; Kain, KC. Transfusion-transmitted malaria in Canada. **CMAJ**, Ottawa, v. 164, n. 3, p. 377-379, fev. 2001.

Snounou, G.V.S. et al. High sensitivity of detection of human malaria parasites by use of nested polymerase chain reaction amplification. **Mol. Biochem. Parasitol.**, v. 61, n. 2, p. 315-320, out. 1993.

Yenen, OS; Keskin, K; Çavuslu, S; Koçak, N; Tübek, MY. A case of *Plasmodium vivax* infection transmitted by renal allograft. **Nephrol Dial Transplant**, v. 9, n. 12, p.1805-1806, jan. 1994.

APÊNDICE

Apêndice A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa. Por gentileza, leia atentamente os dados sobre a pesquisa e, após uma leitura atenta esteja à vontade para perguntar ao pesquisador qualquer informação referente a esta pesquisa. Caso concorde em participar, preencha ou solicite ao pesquisador que preencha este Termo com seus dados e assine-o.

Muito obrigado.

Dados sobre a Pesquisa

Título da Pesquisa: Avaliação do risco de transmissão de malária transfusional na área endêmica brasileira

Pesquisador Responsável: Daniel Roberto Coradi de Freitas

Cargo/Função: Especialista em regulação e vigilância Sanitária da Anvisa

Avaliação do risco da pesquisa:

Risco mínimo (x)	Risco médio ()
Risco baixo ()	Risco maior ()

Duração da pesquisa: 24 meses

Objetivo:

O objetivo desta pesquisa é avaliar o risco de transmissão de malária em pacientes que recebem sangue e hemocomponentes. Quando um candidato à doação de sangue chega a um Hemocentro, é submetido a uma entrevista para avaliação do seu estado de saúde. Após passar por esta entrevista, o candidato terá seu sangue coletado e amostras serão submetidas a testes laboratoriais para detecção de algumas doenças. Um dos testes que é realizado nos Hemocentros da região Norte é o de detecção do parasita que causa a malária. Hoje, de acordo com a legislação vigente, devem ser realizados testes de visualização direta do parasita. Neste estudo, serão realizados testes de detecção do material genético do parasita, que tem se mostrado mais sensível que outros testes. Com isso, espera-se estimar o risco de transmissão da malária pela transfusão de sangue e estabelecer critérios clínicos e laboratoriais mais adequados para aumentar a segurança das pessoas que recebem sangue.

Procedimentos a serem realizados no participante:

Serão coletadas todas as informações prestadas ao Hemocentro sobre esta doação de sangue, incluindo os resultados laboratoriais da sua doação.

Além disso, para participar você deve permitir a coleta de até 5,0 mL de sangue. As amostras poderão ser coletas juntamente com os procedimentos de avaliação do seu hematócrito.

A amostra de sangue será coletada por punção periférica da veia do antebraço. Todo o material utilizado para a coleta é seguro e o profissional que irá realizar o procedimento de coleta é experiente e treinado para isso.

Você poderá sentir um leve desconforto pela picada da agulha.

Benefícios em participar da pesquisa:

Esclarecemos que não há benefício direto para o participante da pesquisa. Você contribuirá para que os conhecimentos sobre a transmissão da malária por transfusão de hemocomponentes sejam ampliados. Futuramente, caso necessite de uma transfusão de sangue e hemocomponentes, os resultados deste estudo poderão beneficiar você.

Em qualquer momento você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. A pesquisadora responsável no Hemoam é a Dra. Kátia Torres, que pode ser encontrada no endereço do Hemoam na Av. Constantino Nery, 4397 – Chapada – Manaus/Amazonas, Fone (92) 3655-0113 ou e-mail katia.torres@hemoam.am.gov.br

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hemoam que fica na Av. Constantino Nery, 4397 – Chapada – Manaus/Amazonas, Fone (92) 3655-0113 Fax (92) 3655-0112, ou e-mail cep_hemoam@hotmail.com

Você poderá retirar o consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu atendimento nesta Instituição.

Confidencialidade:

As informações obtidas serão analisadas em conjunto com a de outros participantes. Não será divulgado, sob nenhuma hipótese, a identificação de nenhum participante nas divulgações da pesquisa.

Despesas e gastos pessoais:

Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação financeira relacionada à sua participação.

Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos propostos neste estudo (nexo causal comprovado), o participante tem direito a tratamento médico nesta Instituição, bem como às indenizações legalmente estabelecidas.

Sua amostra de sangue será utilizada exclusivamente para esta pesquisa.

Dados de Identificação do Sujeito da Pesquisa

NOME:
 DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : M F
 DATA NASCIMENTO:/...../.....
 ENDEREÇO Nº
 BAIRRO: CIDADE
 CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)

Declaração do participante:

Eu, acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo “Avaliação do risco de transmissão de malária transfusional na área endêmica brasileira”.

Eu discuti com o(a) pesquisador(a) sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

....., de de 20.....

Assinatura do participante

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste participante para a participação neste estudo.

....., de de 20.....

.....
**Pesquisador responsável pela
abordagem do participante**

.....
Daniel Roberto Coradi de Freitas
(pesquisador responsável nacional)

Apêndice B – Questionário a ser aplicado aos doadores

PESQUISA TRANSMISSÃO DE MALÁRIA TRANSFUSIONAL

Aprovada pelos Comitês de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da FM-UnB, HUIJM da UFMT e da Fundação Hemoam

Este questionário somente deve ser aplicado após o entrevistado ler e assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e após concluir a coleta da amostra de sangue.

Local da pesquisa:

() Hemoam () Hemeron () Cruzeiro do Sul () Hemoacre

Data da entrevista: ____/____/2009 Questionário nº _____ Entrevistador _____

Identificação do entrevistado	
Número do cadastro do doador no hemocentro:	
Número do cadastro da doação no hemocentro:	
Qual o nome completo do Sr(a)?	Tel ()
Sexo: () Masculino () Feminino	Quantos anos o sr(a) tem? [] () não sabe
Vamos falar sobre seu local de residência	
Nos últimos 30 dias, qual foi seu endereço residencial (de moradia)?	
Rua ou lugarejo: n°	() Urbano () Rural
Bairro: Cidade: UF:	
Nos últimos 30 dias, o sr(a) soube de alguém que tenha ficado doente de malária próximo a sua residência?	() Sim () Não () Não sabe
O Sr(a) já morou fora da região amazônica alguma vez na vida? <i>(considerar apenas períodos > 1 ano) (Estados da região amazônica: AC, AM, AP, MA, MT, PA, RO, RR, TO)</i>	() Sim () Não = Pule para próximo bloco () Não sabe
SE SIM , faz quantos anos que o Sr(a) mora na região amazônica? <i>(calcular com o entrevistado o tempo total em anos que ele mora ou morou na Amazônia, incluindo todos os períodos, intermitentes ou não)</i> [] () não sabe	
Vamos falar sobre seu local de estudo	
O Sr(a) está estudando?	() Sim () Não = Pule para próximo bloco () Não sabe
SE SIM , qual o endereço da instituição que o Sr(a) estudou nos últimos 30 dias?	
Rua ou lugarejo: n°	() Urbano () Rural
Bairro: Cidade: UF:	
Nos últimos 30 dias, o sr(a) soube de alguém que tenha ficado doente de malária na sua escola?	() Sim () Não () Não sabe
Vamos falar sobre seu local de trabalho	
O Sr(a) está trabalhando no momento?	() Sim () Não = Pule para próximo bloco () Não sabe
SE SIM , qual a sua ocupação atual? <i>(considerar a função que exerce atualmente e não a formação técnica ou acadêmica)</i>	
O Sr(a) trabalha fora de casa em algum endereço fixo? <i>(endereço fixo significa permanecer em um mesmo local durante a maior parte da jornada de trabalho diária)</i>	() Sim () Não () Não sabe
Rua ou lugarejo: n°	() Urbano () Rural

Bairro:	Cidade:	UF:
Nos últimos 30 dias, o sr(a) soube de alguém que tenha ficado doente de malária no seu local de trabalho?		() Sim () Não () Não sabe
Vamos falar sobre deslocamentos ou viagens para outras cidades		
Nos últimos 30 dias, o sr(a) se deslocou, visitou ou viajou para alguma outra cidade além da cidade de moradia, de trabalho ou de estudo? (<i>considerar apenas as cidades em que o entrevistado permaneceu por mais de 1 hora</i>)		() Sim () Não = Pule para próximo bloco () Não sabe
SE SIM , por favor, me informe quais as cidades e o tempo de permanência que ficou em cada uma delas. Use o verso, se necessário.		
Cidade	UF	Tempo de permanência (em dias). Se passou algumas horas, registrar “< 1”.
Vamos falar sobre deslocamentos ou viagens para sítios, chácaras, fazendas, matas, garimpos.		
Nos últimos 30 dias, o sr(a) se deslocou, visitou ou viajou para locais como chácaras, sítios, fazendas ou locais com mata ou floresta ou garimpos?		() Sim () Não=Pule para próximo bloco () Não sabe
SE SIM , o sr(a) soube de alguém que tenha ficado doente de malária nestas áreas rurais ou silvestres que o senhor visitou?		() Sim () Não () Não sabe
Vamos falar sobre a malária		
O Sr(a) teve malária nos últimos 30 dias?		() Sim () Não () Não sabe
O Sr(a) teve malária nos últimos 12 meses?		() Sim () Não () Não sabe
Alguma vez na vida o Sr(a) já teve malária?		() Sim () Não = Pule para próximo bloco () Não sabe
SE SIM , quantas malárias o Sr(a) já teve? []		() não sabe
Caso o entrevistado não lembre quantas vezes, pergunte: Qual destes intervalos de quantidades melhor representa seu adoecimento por malária? () 0 a 10 () 10 a 20 () 20 a 30 () 30 a 40 () 40 a 50 () 50 ou +		
O Sr(a) tomou remédio para curar da malária nos últimos 30 dias?		() Sim () Não () Não sabe
O Sr(a) tomou remédio para curar da malária nos últimos 12 meses?		() Sim () Não () Não sabe
Alguma vez na vida o Sr(a) tomou remédio para tratar da malária?		() Sim () Não = Pule para próximo bloco () Não sabe
SE SIM , quantas vezes? (<i>use os intervalos acima se necessário</i>) []		() não sabe
Nos últimos 30 dias, o Sr(a) fez o teste para malária, aquele teste que o profissional de saúde fura seu dedo e coloca uma gota de sangue em uma lâmina de vidro?		() Sim () Não () Não sabe
Sem considerar aqui no hemocentro, nos últimos 12 meses o Sr(a) fez o teste para malária, aquele teste que o profissional de saúde fura seu dedo e coloca uma gota de sangue em uma lâmina de vidro?		() Sim () Não () Não sabe
Ainda sem considerar aqui no hemocentro, alguma vez na vida o Sr(a) fez o teste para malária, aquele teste que o profissional de saúde fura seu dedo e coloca uma gota de sangue em uma lâmina de vidro?		() Sim () Não () Não sabe
SE SIM , quantas vezes? (<i>use os intervalos acima se necessário</i>) []		() não sabe
Alguma vez o resultado foi positivo?		() Sim () Não () Não sabe
SE SIM , quantas vezes os resultados foram positivos? []		() Não sabe
Positivo para <i>Plasmodium vivax</i> ? () Sim () Não () Não sabe. Se sim, quantas vezes? [] () Não sabe		

Positivo para <i>Plasmodium falciparum</i> ? ()Sim ()Não ()Não sabe. Quantas vezes? [] ()Não sabe
Positivo para <i>Plasmodium malariae</i> ? ()Sim ()Não ()Não sabe. Quantas vezes? [] ()Não sabe
Agradeça a atenção e o tempo do entrevistado para esta pesquisa

Ficha complementar à entrevista. Deve ser preenchida com os resultados da triagem clínica e da triagem laboratorial do doador

Identificação do entrevistado	
Número do cadastro do doador no hemocentro:	
Número do cadastro da doação no hemocentro:	
Sinais vitais	
Peso (em quilos): [] Kg	Altura (em centímetros) [] cm
Hematócrito: [] %	Temperatura corporal: [] °C
Pressão arterial: [] x [] mmHg	Pulso: [] bpm
Ficha de triagem	
Teve febre nos últimos 30 dias?	()Sim ()Não ()Não sabe
Resultado da triagem clínica: () apto () inapto	
Se inapto, qual o motivo da inaptidão clínica?	
Resultado da triagem laboratorial para malária	()Positivo ()Negativo ()Não realizado
Tipo de teste utilizado:	() gota espessa () esfregaço () Imunocromatográfico () Outro Descrever outro:
O doador contactou o hemocentro relatando febre ou diagnóstico positivo de malária 20 dias após a doação?	()Sim ()Não

Apêndice C – Roteiro para avaliação normativa dos serviços de hemoterapia com foco na estrutura, processo e resultado da prevenção de transmissão transfusional de malária**Recepção do doador:**

Perguntar ao chefe da unidade de recepção do doador

1. Quais dos documentos abaixo são aceitos para identificação dos doadores na recepção dos doadores?

documento oficial com foto – RG, Carteira de habilitação com foto, carteira de trabalho, carteira de identidade emitida por Conselho Profissional

CPF

Crachá de identidade da empresa onde trabalha

Carteira de estudante

Outro. Descrever _____

2. O doador é informado na recepção sobre as condições básicas de saúde para que ele possa ser doador de sangue?

sim não

Se SIM, responda a pergunta 3.

Se NÃO, pule para a pergunta 4.

3. Quais as formas que o serviço utiliza para informar o doador, no momento da recepção, sobre as condições básicas de saúde para que ele possa ser doador de sangue?

Folder explicativo

Vídeos explicativos na sala de espera

Informação passada verbalmente pelo recepcionista

Outros _____

4. O doador é informado na recepção sobre as doenças transmitidas pelo sangue?

sim não

Se SIM, responda a pergunta 5.

Se NÃO, pule para o bloco Triagem Clínica.

5. Quais as formas que o serviço utiliza na recepção para informar o doador sobre as doenças transmitidas pelo sangue?

Folder explicativo

Vídeos explicativos na sala de espera

Informação passada verbalmente pelo recepcionista

Outros _____

Se marcou informação passada verbalmente, vá para pergunta 6.

Se utiliza algum material, solicitar os materiais disponíveis atualmente ou os já utilizados (folder ou vídeo explicativo). O pesquisador deve observar quais as doenças transmitidas pelo sangue que são abordadas nos materiais.

- AIDS
- Hepatite B
- Hepatite C
- Sífilis
- Doença de Chagas
- Malária
- Doenças relacionadas ao HTLV
- Outras _____

6. Se a informação é passada verbalmente pelo recepcionista, existe algum documento que oriente o recepcionista para esta atividade?

- sim não

Se NÃO, pule para o bloco Triagem Clínica

Se sim, o pesquisador deve solicitar os documentos utilizados pelos recepcionistas. O pesquisador deve observar quais as doenças transmitidas pelo sangue que são abordadas nos documentos.

- AIDS
- Hepatite B
- Hepatite C
- Sífilis
- Doença de Chagas
- Malária
- Doenças relacionadas ao HTLV
- Outras _____

Se malária foi apontada na pergunta anterior, o pesquisador deve assinalar os itens abaixo que constam nos documentos dos recepcionistas e/ou materiais educativos direcionados aos doadores para prevenção de transmissão transfusional de malária.

- Teve malária nos últimos 12 meses
- Está tomando medicamento para malária
- Reside em área ou região com alta incidência parasitária anual ou com grande número de casos de malária
- Residiu em área ou região com alta incidência parasitária anual ou com grande número de casos de malária nos últimos 12 meses
- Visitou área ou região com alta incidência parasitária anual ou com grande número de casos de malária nos últimos 12 meses
- Alguém em sua residência está com malária
- Alguém em sua residência está tomando medicamento para malária
- outras informações relevantes. Descreva _____

Triagem Clínica

Perguntar ao chefe da triagem clínica

1. A triagem clínica é realizada individualmente com cada doador?

sim não

2. A entrevista é feita em sala fechada, individualizada, estando presente apenas doador e triagista?

sim não

3. Qual a formação dos profissionais que realizam a triagem clínica?

Assistentes sociais

Biólogos

Enfermeiros

Farmacêuticos

Médicos

Psicólogos

Técnicos de enfermagem

Técnicos de laboratório

Outros. Descreva

4. Os profissionais da triagem clínica possuem treinamento específico para esta função?

sim não

5. Se sim, com que frequência ocorre esse treinamento?

O pesquisador solicita material de treinamento utilizado para o treinamento dos triagistas.

Caso não obtenha ou não exista, vá para pergunta 6.

Caso obtenha o material, vá para pergunta 8.

6. Nos treinamentos para triagem clínica de doadores, o tema “prevenção de transmissão de doenças pelo sangue” está incluído?

sim não

7. Se sim, que doenças estão incluídas nestes treinamentos?

AIDS

Hepatite B

Hepatite C

Sífilis

Doença de Chagas

Malária

Doenças relacionadas ao HTLV

Outras _____

Se malária foi apontada na questão 7. Que aspectos são abordados nos materiais do treinamento? Assinale todos que estiverem presentes.

- método de cálculo da IPA
 critérios para inaptidão clínica de candidatos pelo risco de infecção por plasmódio
 critérios para a necessidade de realização da triagem laboratorial para malária

Se “critérios para inaptidão clínica de candidatos pelo risco de infecção por plasmódio” foi assinalado, marque os critérios abordados nos treinamentos.

- Teve malária nos últimos 12 meses
 Está tomando medicamento para malária
 Reside em área ou região com alta incidência parasitária anual (IPA>49) ou com grande número de casos de malária
 Residiu em área ou região com alta incidência parasitária anual (IPA>49) ou com grande número de casos de malária nos últimos 12 meses
 Visitou área ou região com alta incidência parasitária anual (IPA>49) ou com grande número de casos de malária nos últimos 12 meses
 Alguém em sua residência está com malária
 Alguém em sua residência está tomando medicamento para malária
 outras informações relevantes. Descreva

8. Existem documentos na sala do triagista que o oriente para os critérios de exclusão clínica de doadores?

- Sim Não

O pesquisador deve obter este documento e verificar se o material inclui critérios de avaliação de risco de transmissão para as seguintes doenças:

- AIDS
 Hepatite B
 Hepatite C
 Sífilis
 Doença de Chagas
 Malária
 Doenças relacionadas ao HTLV
 Outras _____

9. Existe algum documento específico para a malária?

- Sim Não

Caso exista nenhum documento, vá para pergunta 11.

10. Estão presentes nos documentos os critérios para inaptidão clínica de candidatos pelo risco de infecção por plasmódio previstos na RDC ANVISA 153/2004 listados abaixo?

- Rejeitar o candidato que tenha tido malária nos 12 meses que antecedem a doação;
 Rejeitar o candidato com febre ou suspeita de malária nos últimos 30 dias.
 Rejeitar o candidato procedente de área de alto risco de malária de acordo com o IPA (IPA>50)

- Rejeitar o candidato com residência em área de alto risco pelo IPA (IPA>50).
 Ter tido diagnóstico de malária por *Plasmodium malariae* (febre quartã)

11. Quais são os critérios utilizados na triagem clínica para inaptidão clínica de doadores para malária?

- Teve malária nos últimos 12 meses
 Está tomando medicamento para malária
 Reside em área ou região com alta incidência parasitária anual (IPA>49) ou com grande número de casos de malária
 Residiu em área ou região com alta incidência parasitária anual (IPA>49) ou com grande número de casos de malária nos últimos 12 meses
 Visitou área ou região com alta incidência parasitária anual (IPA>49) ou com grande número de casos de malária nos últimos 12 meses
 Alguém em sua residência está com malária
 Alguém em sua residência está tomando medicamento para malária
 outros. Descreva

12. A incidência parasitária anual (IPA) é utilizada como critério para seleção de doadores?

- Sim Não

13. Se Sim, descreva detalhadamente o método de cálculo do IPA utilizado pelo Hemocentro.

14. Quais as faixas da IPA utilizadas pelo Hemocentro para definir os critérios de exclusão?

15. Existe um documento para o triagista apontando as áreas com IPA?

- Sim Não

16. Se Sim, qual o nível de agregação da IPA?

- bairro/localidade município Estado
 Distrito Regional

17. Existe no sistema informatizado a opção de exclusão clínica por malária do candidato a doação?

sim não

Se SIM, responda a pergunta 18 a 20

Se NÃO, pule para o bloco triagem laboratorial

18. Existem no sistema informatizado os motivos da exclusão clínica por malária do candidato a doação?

sim não

19. Existe mecanismo de segurança no sistema informatizado que alerte o triagista que o doador foi inapto para malária na última doação?

sim não

20. Se SIM, descreva detalhadamente este mecanismo.

Triagem Laboratorial

Perguntar ao chefe da triagem laboratorial

1. A triagem laboratorial para malária é executada para todas as doações?

Sim Não

Se Não, vá para pergunta 2

Se Sim, vá para pergunta 5

2. Descreva os critérios do hemocentro para inclusão de doações na triagem laboratorial para malária:

3. A incidência parasitária anual (IPA) é utilizada como critério para inclusão de doadores na triagem laboratorial para malária?

Sim Não

4. Quais as faixas da IPA utilizadas pelo Hemocentro para definir os critérios de inclusão de doações na triagem laboratorial para malária?

5. Quais os métodos laboratoriais utilizados para a triagem laboratorial da malária?

- Gota espessa Imunocromatográfico
 Esfregaço Outro. Descreva _____

6. Em que ponto do ciclo do sangue se coleta a amostra para o teste laboratorial da malária?

- Recepção Coleta do sangue total
 Triagem clínica Outro. Descreva: _____

7. Existe documentos padronizados para o preparo da amostra para o teste laboratorial da malária?

- Sim Não

O pesquisador deve solicitar a cópia deste documento.

8. Existem documentos padronizados para a execução do teste laboratorial da malária?

- Sim Não

Se o serviço NÃO executa gota espessa ou esfregaço, vá para Pergunta 15.

9. Se o teste laboratorial para malária for gota espessa ou esfregaço, qual o tempo de leitura para cada lâmina que está previsto nos documentos?

10. Em média, quantas lâminas são analisadas por dia? _____

11. Quantos profissionais executam a leitura das lâminas? _____

12. Qual a formação dos profissionais que executam a leitura das lâminas?

13. Os profissionais foram treinados para essa função?

- Sim Não

14. Com que frequência ocorre atualizações do treinamento para a execução da leitura das lâminas?

- Sim Não

15. O serviço possui um Programa de Avaliação Externa da Qualidade em imunohematologia?

- Sim Não

Se não, por quê?

16. O serviço possui um Programa de Avaliação Externa da Qualidade em sorologia?

Sim Não

Se não, por quê?

17. O serviço possui um Programa de Avaliação Externa da Qualidade para malária?

Sim Não

Se não, por quê?

18. O serviço utiliza Controle de Qualidade Interno (CQI) nos testes laboratoriais da Imunohematologia?

Sim Não

Se não, por quê?

19. O serviço utiliza Controle de Qualidade Interno (CQI) nos testes laboratoriais da sorologia?

Sim Não

Se não, por quê?

20. O serviço utiliza Controle de Qualidade Interno (CQI) nos testes laboratoriais da malária?

Sim Não

Se não, por quê?

21. Existe algum método para o controle de qualidade dos testes laboratoriais de malária?

Sim Não

Se Sim, descreva?

22. Nos últimos 5 anos, quantos resultados positivos para malária de doadores aptos clinicamente foram registrados no serviço?

Hemovigilância

1. Existe algum mecanismo para detectar doadores que se tornaram suspeitos ou confirmados para malária após a doação?

Sim Não

2. Se Sim, qual o procedimento para lidar com essa informação? Descreva os fluxos e copie os documentos padronizados para isso, se houver. Atentar para fonte da informação, atores envolvidos.

3. Nos últimos 5 anos, houve algum caso de transmissão de malária transfusional por hemocomponentes produzidos no serviço?

Sim Não

4. Se Sim, qual o procedimento para evitar a transmissão pelos outros hemocomponentes da mesma doação?
