

UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS
FUNDAÇÃO HOSPITALAR DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA
DO AMAZONAS DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
APLICADAS À HEMATOLOGIA

ACURÁCIA DIAGNÓSTICA DE UM PAINEL DE SINAIS E SINTOMAS
CLÍNICOS PARA A DETECÇÃO DA DEFICIÊNCIA DE FERRO EM
DOADORAS DE SANGUE

JAMESLY JOSEPH

MANAUS- AM

2019

JAMESLY JOSEPH

**ACURÁCIA DIAGNÓSTICA DE UM PAINEL DE SINAIS E SINTOMAS
CLÍNICOS PARA A DETECÇÃO DA DEFICIÊNCIA DE FERRO EM
DOADORAS DE SANGUE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Hematologia da Universidade do Estado do Amazonas em Convênio com a Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas, para obtenção do grau de *Mestre em Ciências Aplicadas à Hematologia*

Orientador: Dr. Nelson Abrahim Fraiji

Co-orientador: Erich Vinicius de Paula

MANAUS- AM

2019

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária da Fundação Hemoam: **Ana Cristina Chagas Sena CRB-11/348**

J11a Joseph, Jamesly.

Acurácia diagnóstica de um painel de sinais e sintomas clínicos para a detecção da deficiência de ferro em doadoras de sangue.: UEA - ESA / FHemoam.2019.

66 p.Ilust.

Dissertação (Mestrado em Ciências Aplicadas em Hematologia) – Universidade do Estado do Amazonas. Escola de Ciências da Saúde (ESA) e Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas.

Orientador: Prof.^a Dr. Nelson Abrahim Fraiji

Co-orientador: Prof. Dr. Erich Vinícius de Paula

1.Deficiência de ferro 2. Doação de Sangue 3. Sinais Sintomas – Clínicos. II. Título.

CDU: 616-15



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
APLICADAS A HEMATOLOGIA - UEA/HEMOAM




ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO Nº 05/2019

Aos vinte seis dias do mês de março do ano de 2019, às 09h00, realizou-se na Sala de Aula 10, Bloco E, 1º andar, Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas – HEMOAM, sito Av. Constantino Nery, 4397 – Chapada, a Defesa de Dissertação de Mestrado do (a) aluno (a) **Jamesly Joseph**, sob o título “Acurácia diagnóstica de um painel de sinais e sintomas clínicos para a detecção da deficiência de ferro em doadoras de sangue”, em complemento aos critérios exigidos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Aplicadas a Hematologia, tendo como orientador (a) o Prof(a) Dr(a) **Nelson Abrahim Fraiji**, e coorientador (a) o Prof(a) Dr(a) **Erich Vinicius de Paula**, segundo encaminhamento do (a) Prof(a) Dr(a) **Cristina Motta Ferreira**, Coordenador (a) do Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas a Hematologia e de acordo com os registros constantes na Secretaria Geral da Universidade do Estado do Amazonas. A Banca examinadora foi composta pelos seguintes membros: Profs. Drs.: José Pereira de Moura Neto (UFAM), Domingos Sávio Nunes de Lima (UFAM-HUGV), Wuelton Marcelo Monteiro (UEA-FMT/HVD). Encerrando os trabalhos, os examinadores deram o parecer final sobre a defesa, tendo sido atribuído à (o) aluna (o) o conceito discriminado no parecer da referida Comissão.

A Dissertação foi considerada:


Aprovada Não Aprovada



Prof. Dr. José Pereira de Moura Neto (Presidente)



Prof. Dr. Domingos Sávio Nunes de Lima (Membro Externo)



Prof. Dr. Wuelton Marcelo Monteiro (Membro Externo)

DEDICATÓRIA

À todas as mulheres que lutam por um mundo melhor

À Marie-Ange Joseph

À Linda Joseph

À Widelene Saint-Vil

À Michaella François Cesar

AGRADECIMENTOS

Essa pesquisa não é mérito de uma pessoa, muitas pessoas contribuíram para que ela se tornasse possível. Assim, agradeço em particular:

À Deus Pai, ao Deus Filho e ao Espírito Santo porque ele sempre fixa os olhos na minha vida.

À minha mãe Marie Ange Joseph, por ser a principal e primeira estimuladora para eu iniciar esta caminhada, meu pai Tertius Altidor que sempre deseja o melhor para seus filhos, meus irmãos Angelot Joseph, Linda Joseph, Marck Sony Altidor, Jodelin Altidor, Jogens Altidor, minha namorada Widelene Saint-Vil.

Ao Dr. Nelson Abrahim Fraiji que prontamente confiou e aceitou orientar-me nesta pesquisa, Dr. Eric de Paula, co-orientador que com firmeza, delicadeza, cuidados na correção e direcionamento. Meu agradecimento especial, pela amizade e por me acompanhar até a finalização dessa pesquisa.

Aos Professores Cristina Motta Ferreira, Nelson Abrahim Fraiji, Sergio Roberto Lopes Albuquerque pela dedicação ao mestrado, conhecimentos partilhados e pelas sugestões na finalização dessa pesquisa.

Ao Dr. José Neto pelas orientações e explicações sobre a aula de estatística; Ao estatístico Luiz Augusto Schwade por auxiliar nos testes.

Aos colegas do Mestrado: Cintia Cristina Matheus e Xerez de Albuquerque, Evilázio Cunha Cardoso, Fernanda Cozendey Anselmo e Stéphane Saint Pierre.

Aos funcionários do departamento do Programa de Mestrado das Ciências Aplicadas a hematologia. Adriana Malheiro Alle Marie, Alessandra Ferreira de Araújo, Allyson Guimarães da Costa, Ana Cristina Souza das Chagas, Anamika, Andrea Monteiro Tarragô, Breno Garcia de Oliveira, Cristina Motta Ferreira, Edson da Fonseca de Lira, Maria Ivaldete Siqueira de Souza, Luiz Augusto Schwade, Myuki Alfaia Esashika Crispim, Nadja Pinto Garcia, Sônia Cordeiro Campello, Theomário Theotônio Azevedo da Cruz, Wilmara Raimunda Batista da Silva que sempre estão disponíveis para me ajudar, em qualquer situação necessária.

Equipe Médica do HEMOAM, Dr. Rodrigo de Souza Leitão, Dra. Rosângela Abreu, Dra. Ruth Perdiz, Dr. Vinicius e Dra. Cristina Mesquita pela paciência pra me ensinar os primeiros passos da Hematologia. A todas as enfermeiras que também de maneira direta ou indireta participam de atividades na área da saúde que possibilitaram a realização deste trabalho.

Em especial a equipe da unidade de coleta de sangue da Fundação Hemoam.

EPÍGRAFO

*“Idéias não precisam de armas, se elas
podem convencer as grandes massas”*

(Fidel Castro)

RESUMO

A deficiência de ferro (DF) é uma condição de saúde em que a disponibilidade de ferro é insuficiente para atender às necessidades do corpo. Essa condição continua sendo a causa mais comum de anemia, alcançando a metade dos casos de anemia em todo mundo, prevalecendo mesmo em países desenvolvidos. Clinicamente, ela se manifesta por fadiga generalizada, pica, perda de cabelo, disfagia, unhas frágeis, entre outras. Dados recentes mostram que a frequência de DF é alta em doadores de sangue, e que esta situação é ainda mais complexa em mulheres em idades reprodutivas, devido às perdas relacionadas à menstruação, gravidez e lactação. No entanto, umas elevadas proporções de doadoras de sangue são deficientes em ferro, a pesar dos níveis de hemoglobina suficientes para doação. Neste trabalho de pesquisa avaliamos a acurácia de dois instrumentos clínicos (IC), baseados respectivamente na anamnese e no exame físico (EF), com o objetivo de detectar deficiência de ferro sem anemia em doadoras de sangue que compareceram na unidade de coleta de sangue da Fundação HEMOAM, assim fornecer dados para uma melhoria na qualidade de triagem padrão para doação. O estudo realizado foi de corte transversal, descritivo e analítico. A população estudada foi constituída de 221 doadoras de sangue aprovadas no processo de triagem para doação de sangue na unidade de coleta central de HEMOAM. Os dados clínicos foram obtidos por meio de um instrumento para realização de anamnese e do EF. O IC de anamnese testado consistiu em três perguntas, focadas em: (1) sintomas de pica; (2) alterações capilares; e (3) alterações ungueais, e o IC de EF consistiu em um exame físico padronizado, foram avaliados: (1) palidez da conjuntiva palpebral; e (2) fragilidade das unhas. Foram realizados as determinações de ferritina sérica, saturação de transferrina, ferro sérico e hemograma. Já a acurácia dos IC foi mensurada por meio da sensibilidade, especificidade, valores preditivos, razões de verossimilhança. A idade média da população foi de 31 anos. A frequência de doadoras de sangue que apresentavam DF foi de 40% (ferritina <30 ng/ml), e 9,9% das doadoras apresentavam uma deficiência mais grave (ferritina <30 ng/ml). Quanto aos fatores de risco para DF, uma correlação significativa, mas ligeira ($p < 0,05$) foi observada entre a ferritina e a duração da menstruação ($P = 0,0037$). No que diz respeito ao uso do IC, nenhuma das análises dos critérios clínicos utilizados para diagnóstico de DF apresentavam individualmente valores de acurácia aceitáveis. Analisando-se conjuntamente as três perguntas da história clínica, e usando como critério de positividade a resposta afirmativa para apenas uma delas, notamos um aumento clinicamente significativo da

sensibilidade deste critério nos diferentes pontos de corte de ferritina e hemoglobina (Hb), assim como valores mais elevados de valor preditivo negativo (77%, 94% respectivamente com ferritina < 12 ng/ml). O racional desta estratégia foi tentar criar um painel de perguntas que aplicado à triagem, poderia ser usado para a exclusão de doadores com maior risco de DF, ainda que parte destes resultados fossem falsos positivos. Por fim, quando considerado em conjunto as variáveis que indicam DF, do ponto de vista clínico apresentaram maiores valores de sensibilidade e de valor preditivo negativo, indicando a possibilidade de utilização deste critério clínico como instrumento de triagem clínica para DF entre doadoras de sangue, particularmente em áreas com maior prevalência de DF.

Palavras chave: Deficiência de Ferro. Doação de Sangue. Sinais e Sintomas.

ABSTRACT

Iron deficiency (ID) is a health condition in which the availability of iron is insufficient to meet the needs of the body. This condition remains the most common cause of anemia, accounting for half of all cases of anemia worldwide, prevailing even in developed countries. Clinically, it manifests itself through generalized fatigue, pica, hair loss, dysphagia, brittle nails, among others. Recent data show that the frequency of ID is high in blood donors, and that this situation is even more complex in women at reproductive ages due to losses related to menstruation, pregnancy and lactation. However, a high proportion of blood donors are deficient in iron despite sufficient hemoglobin levels for donation. In this study, we evaluated the accuracy of two clinical instruments (CI), based respectively on anamnesis and physical examination (PE), with the objective of detecting iron deficiency without anemia among female blood donors who attended blood collection unit of a public blood center in Brazil (HEMOAM), thus providing data for an improvement in standard screening quality for donation. The study was cross-sectional, descriptive and analytical. The study population consisted of 221 approved blood donors in the blood donation screening process at the HEMOAM central collection unit. The clinical data were obtained by means of an instrument for anamnesis and PE. The anamnesis CI tool consisted of three questions, focused on: (1) pica symptoms; (2) hair loss; and (3) nail changes, and the CI of PE consisted of a standardized physical examination, we evaluated (1) pallor of the palpebral conjunctiva, and (2) nail weakness. Determinations of serum ferritin, transferrin saturation, serum iron and hemogram were performed. The accuracy of the CI was measured by sensitivity, specificity, predictive values, and likelihood ratios. The mean age of the population was 31 years. The frequency of blood donors with ID was 40% (ferritin <30 ng/ml), and 9.9% of the donors had a more severe deficiency (ferritin <30 ng/ml). Regarding the risk factors for ID, significant, yet a mild correlation ($p < 0.05$) was observed between ferritin and duration of menstruation ($P = 0.0037$). Regarding the use of the CI, none of the analyzes of the clinical criteria used for the diagnosis of ID presented individually acceptable values of accuracy. By analyzing the three questions in the clinical history together and using the affirmative criterion for only one of them, we noticed a clinically significant increase in the sensitivity of this criterion in the different cutoff points of ferritin and hemoglobin (Hb), as well as higher values of predictive value negative (77%, 94% respectively with ferritin <12ng/ml). The rationale for this strategy was to try to create a panel of questions that applied to the screening,

could be used to exclude donors with higher risk of ID, although some of these results were false positives. Finally, when considered together all the variables that indicate ID, from the clinical point of view presented higher values of sensitivity and negative predictive value, indicating the possibility of using this clinical criterion as a tool for clinical screening for ID among females blood donors, particularly in areas with higher ID prevalence.

Keywords: Iron deficiency. Blood donation. Signs and symptoms.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Principais causas de deficiência absoluta de ferro / anemia ferropriva.....	23
Tabela 2: Distribuição dos dados para um teste diagnóstico.....	26
Tabela 3: Interpretações de Razões de verossimilhança	27
Tabela 4: Perguntas padrão usadas no estudo	32
Tabela 5: Classificação e definição dos achados do exame físico da unha.....	33
Tabela 6: Exames laboratoriais.....	34
Table 1: Clinical history tool (anamnesis).....	38
Table 2: Classification and definition of physical examination findings of nail.....	39
Table 3: Characteristics of the study population	40
Table 4: The performance (sensitivity, specificity, positive and negative predictive values and likelihood ratio) of clinical tools for the identification of ID using ferritin below the 50th percentile (median).	44
Table 5: The performance (sensitivity, specificity, positive and negative predictive values and likelihood ratio) of clinical tools for the identification of ID using ferritin below the 10th percentile.....	44
Table 6: The performance (sensitivity, specificity, positive and negative predictive values and likelihood ratio) of clinical tools for the identification of ID using Hb< 12,5 g/dl.....	45
Table 7: The performance (sensitivity, specificity, positive and negative predictive values and likelihood ratio) of all three clinical history questions for the identification of ID using different cutoff points of ferritin and Hb.	46

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Absorção de ferro na mucosa intestinal e armazenamento de ferro dentro das células do sistema reticuloendotelial	19
Figura 2: Evolução das alterações laboratoriais no decorrer da evolução da de privação de ferro.....	21
Figura 3: O ferro armazenado em comparação com a perda da doação de uma unidade de sangue total.	25
Figura 4: Probabilidade aproximada.	28
Figure 1: Laboratory parameters of blood donors: Hemoglobin, Hematocrit, Ferritin, MCV, Transferin Saturation, Serum Iron.....	42
Figure 2: Association between ferritin with number of pregnancies, number of births and duration of menstruation.....	43

LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.

CI- Clinical Instrument

Dcytb-Redutase citocroma b duodenal

DF-Deficiência de ferro

DL- Decilitro

DMT-1 - Transportadora de metal divalente 1

EF - Exame físico

Fe+2-íon ferroso

Fe+3 - íon férrico

Hb -Hemoglobina

HCP 1 – Proteína transportadora de heme1

HEMOAM- Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas

IC- Instrumento clínico

ID – Iron deficiency

Kg- Quilograma

LR – Likelihood ratio

MCV - Mean Corpuscular Volume

Mg- Miligrama

ML - Mililitro

Ng – Nanograma

NPV – Negative predictive value

OMS – Organização mundial da saúde

PE – Physical examination

PPV – Positive predictive value

RV- Razão de verossimilhança

VPN – Valor preditivo negativo

VPP- Valor preditivo positivo

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	17
1 DEFICIÊNCIA DE FERRO.....	17
1.1 Definição e aspectos epidemiológicos.....	17
1.2 Metabolismo e causas de deficiência de ferro	18
1.3 Causas da deficiência de ferro	21
1.4 Manifestações clínicas.....	24
1.5 Deficiência de ferro em doadores de sangue	24
1.6 Acurácia do exame físico no diagnóstico de anemia e deficiência de ferro.....	26
2 OBJETIVOS	29
2.1 Objetivo geral	29
2.2 Objetivos específicos	29
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	30
3.1 Desenho do estudo.....	30
3.2 Aspectos éticos	30
3.3 Características da amostra e cálculo do tamanho amostral	30
3.4 População do estudo	30
3.5 Critérios de Elegibilidade:	31
3.5.1 Critérios inclusão.....	31
3.5.2 Critérios de exclusão	31
3.6 Obtenção de dados clínicos	31
3.7 Instrumentos clínicos padronizados para detecção de deficiência de ferro.....	31
3.8 Padronização e validação do IC.....	33
3.9 Testes laboratoriais	33
3.10 Análise estatística	34
4 RESULTADOS	35
5 DISCUSSÃO	53
6. CONCLUSÕES.....	57
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58

8 ANEXOS	62
8.1 Anexo 1. Questionário para coleta de dados	62
8.2 Anexo 2. Termo de consentimento livre e esclarecido.....	63

INTRODUÇÃO

1 DEFICIÊNCIA DE FERRO

1.1 Definição e aspectos epidemiológicos

A DF é a desordem nutricional mais comum e prevalente no mundo sendo causada basicamente por baixa ingestão de ferro (com ou sem absorção deficiente), perdas sanguíneas (ex. fluxo menstrual excessivo ou sangramento digestivo), e aumento da demanda por ferro devido às intensas mudanças fisiológicas observadas em crianças e Adolescentes. A medida que estes processos continuam, a síntese de proteínas contendo ferro, como a hemoglobina, torna-se comprometida. Finalmente quando a concentração de hemoglobina cai abaixo de um valor normal, a DF evoluiu para anemia ferropriva, sua forma mais grave (1, 2)

A DF ocorre em duas formas principais: absoluta ou funcional. A DF absoluta surge quando as reservas de ferro total do corpo são baixas ou esgotadas; a deficiência funcional é um processo em que as reservas totais de ferro corporal são normais ou aumentadas, porém, o suprimento de ferro na medula óssea é inadequado(3). A deficiência funcional é observada durante os processos inflamatórios crônicos e agudos.

Estima-se que mais de 1,2 bilhões de pessoas vivam com anemia ferropriva, mas com variação considerável em países de baixa e alta renda. A prevalência global de deficiência de ferro sem anemia permanece indefinida, embora o valor sugerido seja pelo menos o dobro de anemia ferropriva responsável por aproximadamente 75 a 80% da carga total de anemias no mundo(4, 5). A DF é a única deficiência de nutrientes que prevalece também em países industrializados, particularmente em mulheres em idade fértil com fluxo menstrual aumentado periodicamente (6).

A DF ocorre em torno de 40% em crianças pré-escolares, 30% em meninas e mulheres que menstruam, e 38% em mulheres grávidas. Essas taxas refletem o aumento da necessidade fisiológica de ferro dietético durante estágios de vida específicos e de acordo com o sexo (7).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estimou em 1992, que 37% de todas as mulheres tinham deficiência de ferro. Em recente análise da carga global de anemia, mesmo após 13 anos do estudo da OMS, essa prevalência permanece inalterada. Kassebaum e colaboradores estimaram que mais de 30% da população mundial é anêmica, devido a DF (4). Em adição a anemia, a DF causa perda de energia, da função cognitiva, da função sexual, e da produtividade no trabalho(8).

A deficiência afeta mais pessoas do que qualquer outra condição, estabelecendo uma condição de saúde pública de magnitude igual a uma epidemia. Segundo a Organização

Mundial de Saúde (OMS), em países com baixo índice de desenvolvimento humano, cada segunda gestante e cerca de 40% das crianças pré-escolares são consideradas anêmicas (9)

No Haiti, dados sobre prevalência indicam que anemia ainda é um problema grave de Saúde Pública em crianças menores de 6 anos e mulheres em idade fértil. A avaliação nacional mais recente de anemia e DF foi realizada em 2005, revelando uma prevalência global de 60,6% em crianças entre 6-59 meses, 45,5% em mulheres não grávidas e 50,3% em mulheres grávidas. Um estudo nacional do ano 2000 relatou uma prevalência de anemia de 63,1% em crianças de 12 a 59 meses, 54,4 % em mulheres não grávidas e 63,2% em mulheres grávida (10).

No Brasil, de acordo com o Ministério da Saúde (2007), elevadas prevalências de DF têm sido verificadas, embora no país não se dispõe de uma pesquisa de representatividade nacional que indique a situação dessa carência nas varias regiões. Os estudos existentes revelam aumento progressivo na prevalência de anemia por DF. O mais recente levantamento pela Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde (PNDS) indicou que 20,9% das crianças menores de 5 anos apresentavam anemias. Nesse inquérito foi observada importante variação de prevalência de anemia entre as regiões, variando de 10,4% no Norte a 25,5% no Nordeste(11)

Segundo um inquérito estadual de Pernambuco realizado em 1997, a prevalência de anemia entre as crianças menores de 5 anos foi de 46,7%, e de 25% nas mulheres em idade fértil. Na região metropolitana do Recife, o percentual de anemia para essas mulheres foi de 25,5 %, no interior urbano de 19,9% e no interior rural de 22,9% (12).

1.2 Metabolismo e causas de deficiência de ferro

Nos homens, o ferro total do corpo foi estimado em 50 mg/kg (aproximadamente 4000 mg), enquanto que para as mulheres em 40 mg/kg (aproximadamente 2500 mg) (13). A maioria do ferro total do corpo, cerca de 60-70% está presente na hemoglobina em eritrócitos circulantes. Outros 10% de ferro corporal essencial estão presentes nas formas de mioglobinas, citocromos e enzimas que contêm ferro: catalases, peroxidases, lipoxigenases. Em indivíduo saudável, os restantes 20-30% do excesso de ferro são armazenados como ferritina e hemossiderina em hepatócitos e macrófagos reticuloendoteliais. Sendo um dos metais mais abundante no corpo e essencial para o metabolismo humano. O ferro desempenha papeis importantes no processo celular, como a síntese de DNA, RNA, e proteínas, transporte de elétron, respiração celular, proliferação e diferenciação celular, e regulação da expressão gênica (14)

São necessários diariamente 20-25 mg de ferro para a produção de células vermelhas no sangue e metabolismo celular. Como a ingestão pela dieta é limitada (1-2 mg por dia), outras fontes são necessárias para a homeostase do ferro, como por exemplo, a reciclagem de eritrócitos em envelhecimento em macrófagos. Em torno de 1-2 mg de ferro é perdido diariamente como consequência do sangramento menstrual, transpiração, descamação da pele, e excreção urinária. Como o ferro não possui uma via de regulação de excreção, a ingestão, a absorção intestinal e a reciclagem de ferro devem ser finamente reguladas(3). O ferro utilizado pelo organismo é obtido de duas fontes principais: da dieta e da reciclagem de hemácias senescentes (15). Entre as fontes dietéticas de ferro merecem destaque as carnes vermelhas e vísceras, mariscos (todos estes fornecem a forma heme do ferro), e vegetais como brócolis, couve e espinafre, que fornecer a forma não heme (ferro inorgânico) representa a maior proporção de ferro na dieta, aproximadamente 85 a 90% da ingestão total, e é menos biodisponível do que as fontes animais. O ferro heme representa 5 a 10% do ferro dietético, porém, sua absorção pode chegar a 25% comparada a apenas 5% para o ferro não heme. Uma dieta normalmente contém de 13 a 18 mg de ferro, dos quais somente 1 a 2 mg serão absorvidos. A absorção acontece pelo epitélio duodenal superior, que apresenta estruturas vilosas para ampliar a superfície de absorção(16, 17). O transporte de ferro de lúmen intestinal até a circulação sanguínea ocorre em três fases principais (**Figura 1**).

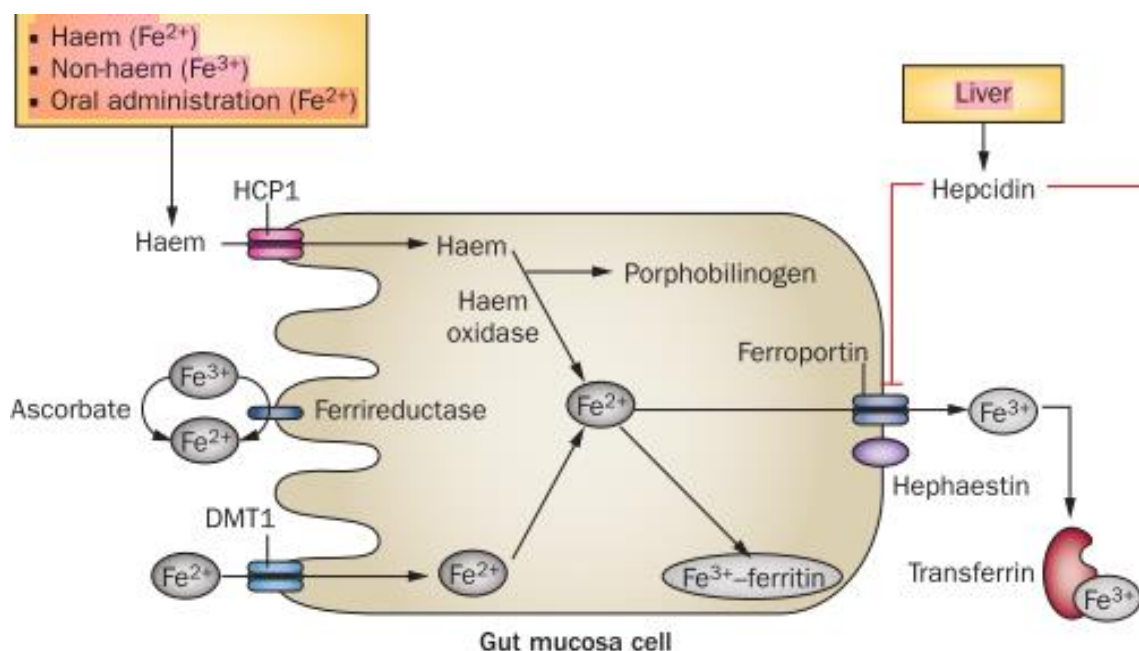


Figura 1: Absorção de ferro na mucosa intestinal e armazenamento de ferro dentro das células do sistema reticuloendotelial

As proteínas envolvidas na absorção de ferro, DMT-1: transportador de metal divalente 1; HCP1: proteína transportadora do heme-1.

Fonte: Adaptado de Heahling et al ; 2015 (18).

a) Absorção de ferro na membrana apical do enterócito

Os enterócitos duodenais diferenciados expressam níveis elevados de proteínas envolvidas na absorção de ferro. Na membrana da borda de escova dos enterócitos a principal proteína de importação de ferro ferroso (Fe^{2+}) é a transportadora de metal divalente 1 (DMT-1). Para exercer sua função, a DMT-1 necessita a ação da redutase citocromo b duodenal (Dcytb) que facilita a redução do ferro férrico (Fe^{3+}) dietético na forma ferrosa (Fe^{2+}). A absorção do ferro heme é menos estabelecida. Há evidências de que o heme é absorvido pela endocitose mediada por receptor, mas um receptor de alta afinidade para o heme nos enterócitos ainda não foi identificado. A proteína transportadora do heme-1 (HCP1), o transportador de folato foi identificado como transportador de heme apical, no entanto, a proteína parece desempenhar um papel, mas importante na absorção de folato e tem uma afinidade menor por heme (19).

b) Transporte intracelular

Uma vez que o ferro tenha sido absorvido em sua forma ferrosa por enterócitos dois possíveis destinos podem ocorrer, dependendo da demanda de ferro. Se a necessidade for baixa ele permanecerá no enterócito sequestrado pela ferritina e será eliminado quando ocorrer a descamação do epitélio intestinal. Se houver necessidade de ferro pelo organismo ele será transportado para fora do enterócito em direção da circulação sanguínea para ser transportado pela transferrina (20).

c) Exportação de ferro para o plasma

A ferroportina 1 é o único exportador de ferro através da membrana basolateral dos enterócitos duodenais identificado até o momento (20). Sua atividade pode ser inibida por hepcidina, um pequeno peptídeo que é principalmente secretado por hepatócitos e foi descrito em 2001 em ratos com sobrecarga de ferro. A hepcidina tem um papel crucial no controle da disponibilidade de ferro para os tecidos. Alta expressão de hepcidina diminuiu as concentrações de íons plasmáticos e baixa expressão aumenta as concentrações. Chegando à membrana basolateral dos enterócitos, o ferro ferroso (Fe^{2+}) externalizado pela ferroportina deve ser oxidado para Fe^{3+} . A hepcidina, oxidada semelhante à ceruloplasmina sérica, é responsável por essa conversão (17).

A maior parte do ferro no corpo é distribuída entre três compartimentos: o compartimento de armazenamento, o compartimento de transporte e o compartimento funcional. Durante o desenvolvimento da deficiência de ferro, esses compartimentos tornam-se subseqüentemente afetados, o que marca três estágios consecutivos de deficiência de ferro (figura 2): (i) depleção de ferro; (ii) eritropoiese deficiente em ferro; e (iii) anemia ferropriva. Um balanço de ferro negativo primeiro diminui as reservas de ferro corporal. Quando o ferro se torna ausente no compartimento de armazenamento, o compartimento de ferro funcional não é afetado, mas existe uma depleção de ferro. Uma vez que as reservas de ferro estão esgotadas, a quantidade de ferro no compartimento de transporte começa a diminuir. O estágio da eritropoiese de deficiência de ferro foi atingido; o fornecimento de ferro na medula óssea é insuficiente para a eritropoiese. No entanto, os níveis de Hemoglobina ainda são normais. Esta condição é o que chamamos de deficiência de ferro subclínica. Quando o compartimento funcional é finalmente afetado e o fornecimento de ferro não é mais suficiente para produzir uma quantidade normal de hemoglobina, e a anemia ferropriva torna-se aparente (21)

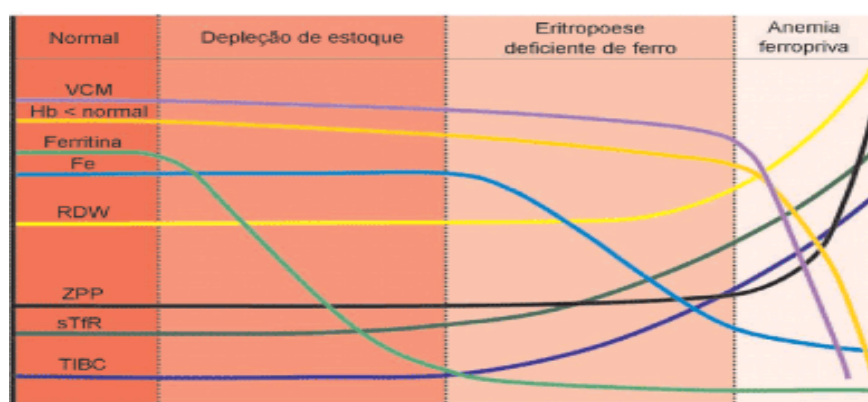


Figura 2: Evolução das alterações laboratoriais no decorrer da evolução da de privação de ferro.

VCM; volume corpuscular médio; Hb: hemoglobina; Fe: ferro sérico; RDW: índice de anisocitose; ZPP: zincoprotoporfirina; sTfR: receptor solúvel da transferrina; TIBC: capacidade total de ligação do ferro à transferrina

Fonte: Adaptado de Grotto; 2010 (15).

1.3 Causas da deficiência de ferro

A DF pode resultar da ingestão e absorção inadequada de ferro, aumento dos requisitos de ferro durante o crescimento e perdas excessivas de ferro. As mulheres em idade reprodutiva correm um risco especial devido a menstruação, enquanto a gravidez e o parto

resulta em uma perda de ferro de 580 a 680 mg por causa de feto e requisitos de placenta e sangramento durante o parto(9)

Várias drogas e anormalidades podem levar a anemia ferropriva, incluído perda de sangue, má absorção, doença crônica (denominada anemia da deficiência de ferro associada a anemia de doenças crônicas) e alterações genéticas. A perda de sangue é a mais comum, especialmente a partir do trato digestivo. Nas diretrizes dos Estados Unidos, as causas mais comuns de perda de sangue foram carcinoma de colo, carcinoma gástrico, ulceração gástrica benigna e angiodisplasia (**Tabela 1**).

Nos países em desenvolvimentos, os parasitas gastrointestinais, como *Trichuris trichura* e *Necator americanus* (ancilostomíase), representam cerca de um terço da anemia de deficiência de ferro (3).

Tabela 1: Principais causas de deficiência absoluta de ferro / anemia ferropriva

Tipo de causa	Condição	Mecanismo fisiopatológico
Requisitos de ferro aumentados	Bebês, crianças pré-escolares, adolescentes	Crescimento rápido na infância ou na adolescência
	Mulheres grávidas: segundo e terceiro trimestres	Expansão da massa eritróide materna e fetal
Baixa ingestão de ferro	Desnutrição Vegetarianos, veganos	Ferro dietético insuficiente: baixos níveis de ferro heme ou pouco biodisponível (por exemplo, quelato por fitatos)
Diminuição da absorção intestinal de ferro	Gastrectomia, bypass duodenal, cirurgia bariátrica	Superfície de absorção diminuída
	Enteropatia induzida por glúten	
	Gastrite atrófica autoimune	PH aumentado
	Infecção por <i>Helicobacter pylori</i>	Aumento do pH e perda de sangue
	Drogas: inibidores da bomba de prótons, bloqueadores dos receptores histamínicos	Bloqueio da secreção de ácido gástrico
Perda de sangue crônica	Infestação por parasitas	
	Lesões benignas e malignas gastrintestinais	
	Salicilatos, corticosteroides, anti-inflamatórios não-esteróides	Sangramento do trato gastrointestinal
	Menstruação abundante, hematúria	Sangramento do sistema geniturinário
	Doadores de sangue frequentes	Sangramento repetido
Causas múltiplas (deficiência absoluta de ferro associada à inflamação)	Doença renal crônica	Diminuição da absorção de ferro, aumento da perda de sangue, redução da excreção de hepcidina e aumento da produção
	Doenças inflamatórias intestinais	Diminuição da absorção de ferro, aumento da perda de sangue, alta hepcidina

Fonte: CAMASCHELLA 2019 (1)

1.4 Manifestações clínicas

Os sintomas que sugerem DF são geralmente vagos e podem ser associados a uma série de condições clínicas. O mais importante, fadiga, é inespecífico, em uma prática de cuidados primários a fadiga foi relatada em apenas um entre 52 pacientes com anemia(22). Alterações nas células epiteliais como boca seca, queilite, glossite atrófica, faringite pseudomembranosa chamada de síndrome de Plummer-Vinso, perda de cabelo e unhas frágeis, com tendência a desfolhamento foram observadas em deficiências de longa duração(1). Muitas vezes independente da anemia que é o estágio final de DF outros sintomas como pica (ingestão de materiais não nutritivos como argila, sujeira, papel, amida de lavanderia e outro), pagofagia (uma necessidade obsessiva em consumir gelo) que pode levar a doença gengival são fortemente sugestivos de DF(23). Por causa de sua cronicidade, elucidar esses sintomas requer questionamentos específicos. Esse tipo de comportamento é muito mais comum em mulheres e crianças, por razões pouco claras. Síndrome das pernas inquietas revela DF em uma proporção de casos(8). A palidez da pele, da conjuntiva e do leito ungueal são sinais clínicos específicos associados com anemia por deficiência de ferro, outros sinais cardíacos como taquicardia e sopro de fluxo sistólico constituem achados freqüentes (3). A DF foi relatada como causa para redução da performance cognitiva e retardo o desenvolvimento mental e motor em crianças (3)

1.5 Deficiência de ferro em doadores de sangue

A DF é um problema de saúde global e um problema específico para os doadores de sangue, afetando 25-35% de todos os tipos de doadores com maior prevalência associada entre as mulheres em idade fértil (24).

O impacto da doação de sangue no status de ferro do organismo tem sido estudado desde a década de 1970 (25). A deficiência crônica de ferro é uma complicação bem reconhecida da doação regular de sangue, Cook e Skikne (1982) estimaram estoques de ferro tecidual de 776 ± 313 mg em homens e 309 ± 346 mg em mulheres de 20 a 45 anos de idade. Estimativas semelhantes foram encontradas em doadores de sangue pela primeira vez, nos homens tendo uma média de 881 mg de ferro armazenado, mulheres ≥ 50 anos com 591 mg e mulheres 18-50 anos com 411 mg (16). A perda de aproximadamente 250 mg de ferro em cada doação de sangue total, valor que representa quase 25% das reservas médias de ferro em homens e quase 75% das reservas de ferro em mulheres, resultam em alta incidência de DF em doadores frequentes, principalmente mulheres (Figuras 3)

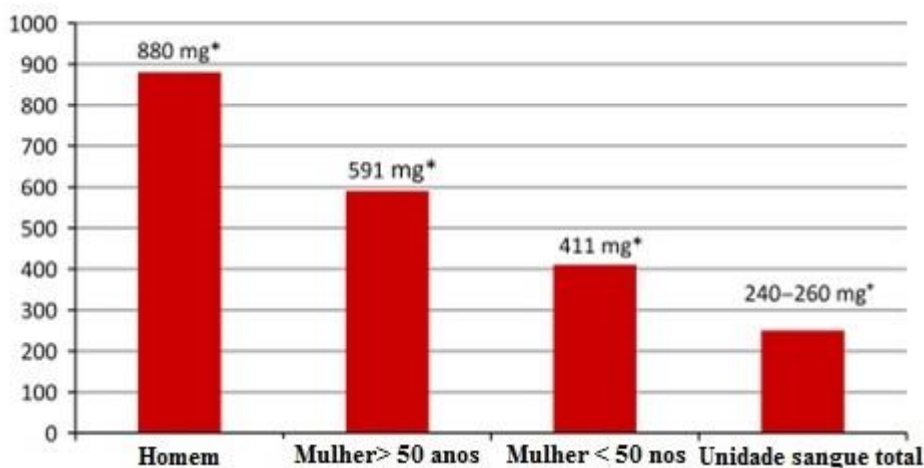


Figura 3: O ferro armazenado em comparação com a perda da doação de uma unidade de sangue total (extrema direita) relatada pelos estudos indicados.

A maior perda proporcional (60%) é em mulheres com idade ≤ 50 anos.

Fonte: Adaptado de Kiss et al; 2017 (16)

Hoje em dia a evidência disponível demonstra inequivocamente que a doação de sangue contribui para a depleção de ferro. Estudos recentes ajudaram a delinear a importância relativa de vários determinantes da depleção de ferro, mas os correlatos clínicos são menos claros(26). Estudos mostram que 22% das mulheres em idade fértil têm um nível de ferritina inferior a 15 ng / mL e 4% apresentam anemia ferropriva e entre 6% e 27% dos doadores de sangue femininos elegíveis para doação têm DF, dependendo da frequência da doação (27).

Uma vez que a anemia é a última fase da depleção de ferro, a triagem para anemia em doadores de sangue, a partir apenas da avaliação da hemoglobina e/ou do hematócrito, como rotineiramente realizado na maioria dos bancos de sangue, pode não ser capaz de detectar e excluir doadores com depleção dos estoques de ferro e sem anemia. Doadores regulares de sangue estão expostos a maior risco de desenvolvimento de deficiência de ferro, devido à espoliação de ferro que ocorre com a doação. Esta situação é ainda mais complexa em mulheres, que apresentam uma maior demanda diária por este micronutriente devido às perdas menstruais. A triagem padrão para doação de sangue não inclui a avaliação dos estoques de ferro, o que permite que mulheres com ferropenia sem anemia, sejam liberadas para doação. O refinamento de estratégias clínicas capazes de identificar estas doadoras pode reduzir a chance de que elas sejam liberadas para doação, mitigando os efeitos deletérios sobre sua saúde.

1.6 Acurácia do exame físico no diagnóstico de anemia e deficiência de ferro

Todo método diagnóstico seja laboratorial, de imagem, o mesmo o exame físico é sujeito a erros. Um resultado positivo pode ocorrer mesmo quando o paciente é saudável e, o negativo pode vir mesmo quando o paciente está doente, ambos os valores podem se originar de qualquer condição. Um diagnóstico é acurado quando reflete o real estado do paciente. Na acurácia dos indicadores clínicos cada indicador é considerado um teste diagnóstico, de forma que dependendo da acurácia pode-se determinar a probabilidade de presença ou ausência do diagnóstico estudado (28)

Acurácia do teste refere-se à quanto, em termos quantitativos ou qualitativos, um teste é útil para diagnosticar um evento (validade simultânea ou concorrente) ou para predizê-lo (validade preditiva). O teste diagnóstico ideal deveria fornecer, sempre, a resposta correta, ou seja, um resultado positivo nos indivíduos com a doença e um resultado negativo nos indivíduos sem a doença. Além do que, deveria ser um teste rápido de ser executado, seguro, simples, inócuo, confiável e de baixo custo. Assim, a determinação da sensibilidade, especificidade, valor preditivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN) e a razão de verossimilhança (RV) de um teste diagnóstico constituem uma importante parte do processo da sua validação(29).

A **Tabela 2** mostra as relações entre os resultados de um teste e o diagnóstico verdadeiro. O teste é considerado positivo (anormal) ou negativo (normal), e a doença presente ou ausente. Assim, na avaliação de um teste diagnóstico existem 4 interpretações possíveis para o resultado do teste: duas em que o teste está correto e duas em que está incorreto. O teste está correto quando ele é positivo na presença da doença (a: resultados verdadeiros positivos), ou negativo na ausência da doença (d: resultados verdadeiros negativos). Por outro lado, o teste está incorreto quando ele é positivo na ausência da doença (b: falso positivo), ou negativo quando a doença está presente (c: falso negativo).

Tabela 2: Distribuição dos dados para um teste diagnóstico

Resultado do teste	Resultado da doença		Total
	Presente	Ausente	
Positivo	a Verdadeiro positivo	b Falsopositivo	a + b
Negativo	c Falso negativo	d Verdadeiro negativo	c + d
Total	a + c	b + d	n

Da tabela 2, os seguintes indicadores (sensibilidade, especificidade, valores preditivos) são estimados como: (1) Sensibilidade: $a/(a+c)$ é a capacidade que o teste diagnóstico/triagem apresenta de detectar os indivíduos verdadeiramente positivos, ou seja, de diagnosticar corretamente os doentes; (2) especificidade: $d/(b+d)$ é a capacidade que o teste diagnóstico/triagem tem de detectar os verdadeiros negativos, isto é, de diagnosticar corretamente os indivíduos sadios; (3) VPP: $a/(a+b)$ é a proporção de doentes entre os positivos pelo teste; (4) VPN: $d/(c+d)$ é a proporção de sadios (sem a doença) entre os negativos ao teste (28, 30).

No que diz respeito ao RV, como sensibilidade e especificidade descrevem o poder de um exame (sinal, sintoma, resultado laboratorial, de imagem) em discriminar doentes de não doentes. No contexto de anemia, a maioria dos estudos feitos sobre a acurácia da palidez para diagnosticar anemia tem se baseado na sensibilidade e especificidade enquanto poucos calcularam as razões de verossimilhança. A vantagem da razão de verossimilhança é dupla. Primeiro, fornece ao médico uma estimativa de confiança na possibilidade de doença quando um sinal específico é encontrado durante o exame. Segundo, dá a probabilidade pós-teste de uma doença quando sua probabilidade pré-teste é conhecida(31). Assim, A RV de qualquer achado clínico é a probabilidade desse achado em pacientes com doença dividida pela probabilidade do mesmo achado em pacientes sem doença. Quanto maior a RV, maior a probabilidade de doença, quanto menor a RV, menor a probabilidade de doença (**Tabela3**).

Tabela 3: Interpretações de Razões de verossimilhança

RV	Interpretação
>10	Aumento grande e muitas vezes conclusivo na probabilidade de doença
5-10	Aumento moderado na probabilidade da doença
2-5	Pequeno aumento da probabilidade de doença
1-2	Aumento mínimo na probabilidade de doença
1	Nenhuma mudança na probabilidade de doença
0.5-1.0	Redução mínima na probabilidade de doença
0.2-0.5	Pequena diminuição na probabilidade de doença
0.1-0.2	Diminuição moderada na probabilidade de doença
<0.1	Diminuição grande e muitas vezes conclusiva na probabilidade de doença

De acordo com um mnemônico sugerido por McGee, valores de RV de 2, 5 e 10 aumentam a probabilidade da doença em cerca de 15%, 30% e 45%, respectivamente (**Figura 4**) (28).

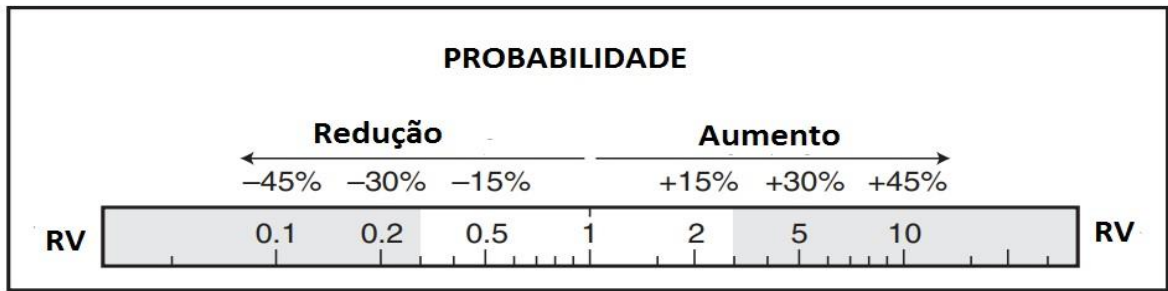


Figura 4: Probabilidade aproximada.

Os médicos podem estimar mudanças na probabilidade, lembrando RV2, 5 e 10 e os três primeiros múltiplos de 15 (ou seja, 15, 30 e 45). Um achado cuja RV é 2 aumenta a probabilidade em cerca de 15%; um de 5 aumenta 30%; e um dos 10 aumenta 45% (essas mudanças são aumentos absolutos na probabilidade). RV com valores de 0,5, 0,2 e 0,1 (ou seja, inversos de 2, 5 e 10) diminuem a probabilidade de 15%, 30% e 45%, respectivamente.

Fonte: Adaptado de McGee S ; 2002 (28)

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Avaliar a acurácia diagnóstica de um painel de sinais e sintomas clínicos para a detecção da deficiência de ferro em doadoras de sangue.

2.2 Objetivos específicos

- Descrever a prevalência de fatores de risco e de sintomas da deficiência de ferro em doadoras de sangue da Fundação HEMOAM
- Descrever os sinais clínicos associados a deficiência de ferro na população do estudo
- Avaliar os estoques de ferro na população do estudo, através de testes bioquímicos (ferritina, ferro sérico e capacidade total de ligação do ferro)
- Avaliar a acurácia diagnóstica da anamnese e do exame físico para a detecção da deficiência de ferro nesta população

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Desenho do estudo

Trata-se de um estudo de corte transversal e descritivo, em que doadoras de sangue da unidade de coleta central da Fundação HEMOAM aprovadas no processo de triagem para doação de sangue, foram convidadas a participar do estudo. Dados sobre aspectos clínicos e laboratoriais das doadoras foram coletados através de entrevistas, exame físico e em amostras de sangue total obtidas no momento da doação. Os dados foram registrados em questionário específico (anexo 1), e tabulados em planilha Excel.

3.2 Aspectos éticos

O estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da instituição (CAAE: 82706418.4.0000.0009), e só foi iniciado após a aprovação final do mesmo. Os voluntários foram convidados a participar após a triagem para doação de sangue. Os procedimentos do estudo foram explicados detalhadamente, e uma via do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) foi dada ao voluntário. Os procedimentos foram realizados conforme a legislação brasileira, estabelecida pela Resolução 466 de 2012 do Conselho Nacional de Saúde.

3.3 Características da amostra e cálculo do tamanho amostral

Foi usada uma amostra aleatória simples, ou seja, as doadoras foram selecionadas ao acaso no setor de coleta da fundação, com um erro de 6,0% e confiabilidade de 95%, adotando uma prevalência de 30% de mulheres com DF para o cálculo da amostra, sendo uma população total de 14.442, representando o número de doadoras no ano 2016. Para o cálculo da amostra utilizamos o software R (livre), que gerou um resultado de 221 doadoras como meta de recrutamento (tamanho amostral).

3.4 População do estudo

O estudo foi realizado na unidade de coleta central da Fundação de Hematologia e Hemoterapia (HEMOAM), um banco de sangue público em Manaus, no Estado de Amazonas, no Norte do Brasil. Foram recrutadas para o estudo doadoras de sangue que tenham sido aprovadas no processo de triagem para doação de sangue, que inclui uma entrevista e uma estimativa da massa eritrocitária, realizada através de um microhematócrito. Para aprovação, é necessário um microhematócrito acima de 37%. Após a triagem, as doadoras aprovadas em ambas às etapas da triagem foram convidadas a participar do estudo, e a assinar o termo de

consentimento livre e esclarecido (TCLE). O recrutamento foi feito de 2^a a 6^a feira, no período da manhã, de forma consecutiva até que a meta de recrutamento de 221 doadoras fosse atingida. Devido ao tempo estimado de duração da entrevista e do exame físico (10 minutos), não foram recrutadas todas as doadoras aprovadas para a triagem. Para garantir que a inclusão seja randômica, o convite foi feito à próxima voluntária imediatamente após o término da avaliação da anterior. Considerando que o número diário de doações no HEMOAM é de 182, e que 25% destas doações são feitas por mulheres, foram recrutadas no mínimo 3 e no máximo 10 voluntárias por dia.

3.5 Critérios de Elegibilidade:

3.5.1 Critérios inclusão

- Doadoras aprovadas na triagem

3.5.2 Critérios de exclusão

- Doadoras com Hb >14 na triagem
- Roer unha ou unha postiça

3.6 Obtenção de dados clínicos

Os dados clínicos das doadoras foram obtidos por meio de um questionário estruturado especificamente elaborado para este projeto. O questionário foi aplicado por um dos investigadores (J.J) antes da coleta de sangue, abordando variáveis relacionados com os fatores de risco e sintomas de DF, com duração aproximada de 5 a 10 minutos por doadora. O questionário é apresentado no anexo 1. Em relação aos fatores de risco para anemia por deficiência de ferro, todas as participantes foram questionadas sobre a história menstrual (duração em dias, presença ou não de coágulos), a história gestacional (número de gestações, número de partos), a história da perda sanguínea gastrointestinal, a frequência de doação de sangue.

3.7 Instrumentos clínicos padronizados para detecção de deficiência de ferro

Em nosso estudo, avaliamos a acurácia diagnóstica de um instrumento clínico (IC) padronizado, subdividido em uma ferramenta de anamnese e uma de exame físico (EF).

O IC de **anamnese** testado consistiu em três perguntas, focadas em: (1) sintomas de pica; (2) alterações capilares; e (3) alterações ungueais. As perguntas foram feitas de forma padronizada, conforme **Tabela 4**.

Tabela 4: Perguntas padrão usadas no estudo

Você tem vontade de comer gelo, arroz cru, pó de café ou alguma coisa fora de comum?		
<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	Se sim, especifique?
Seu cabelo está caindo muito?		
<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	
Sua unha é fraca?		
<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	Se sim, especifique?
Sua unha é quebradiça?		
<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	Se sim, especifique?
Sua unha é desfolha?		
<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	Se sim, especifique?

* A fim de aumentar a especificidade do IC, a presença de queixas ungueais foi considerada positiva apenas quando o doador respondeu positivamente a duas das três perguntas sobre anormalidades ungueais.

O IC do **exame físico** (EF) consistiu de um exame físico padronizado, realizado por um dos pesquisadores (J.J.), cuja formação é de médico. Avaliamos (1) palidez da conjuntiva palpebral e (2) fragilidade das unhas seguindo um protocolo previamente estabelecido

A palidez da mucosa conjuntival foi classificada como ausente ou presente, e foi avaliada sempre na pálpebra inferior sob a luz natural examinando-se a conjuntiva palpebral. A conjuntiva era considerada pálida se a borda anterior da conjuntiva palpebral inferior estivesse tão pálida quanto à borda posterior mais profunda (32).

O EF da unha foi realizado em um local com iluminação apropriada, por meio de procedimento adaptado da publicação “Nail as a window of systemic diseases”(33). A doadora era colocada em posição sentada, de frente para o examinador, que realizava a palpação e inspeção da unha. Foram examinados o 2º, 3º e 4º quirodáctilos de ambas as mãos. As unhas foram palpadadas por pressão digital no leito ungueal dos dedos supracitados, de modo a identificar a fragilidade, que foi classificada como "presente" ou "ausente". A classificação presente em três ou mais das seis unhas foi registrada, de modo que o achado do EF das anomalias ungueais resultou nos seguintes resultados: presença ou ausência de fragilidade ungueal (**Tabela 5**). Nos casos em que não havia leito ungueal para o exame da resistência (por a mesma ter sido roída), o caso era classificado como não avaliável.

Tabela 5: Classificação e definição dos achados do exame físico da unha

Presença de fragilidade ungueal: redução da resistência da unha, aquela unha que se dobra ou curva facilmente à pressão digital no 2º, 3º e 4º dígitos de ambas as mãos
Ausência de fragilidade ungueal: sem sinais de anormalidades
Unha não avaliável: são casos em que não havia leito ungueal para avaliar a resistência (por a mesma ter sido roída)

3.8 Padronização e validação do IC

Antes de iniciar a coleta de dados, dois médicos foram convidados a examinar cinco doadores voluntários selecionados aleatoriamente para testar a padronização e validação do IC (anamnese como exame físico). Após o exame clínico ter sido completado pelo primeiro médico, um segundo médico reexaminou os doadores. Cada um dos examinadores documentou sua avaliação das três questões da anamnese, da palidez conjuntival e da fragilidade ungueal com base na estrutura do método clínico previamente estabelecido. Os resultados obtidos foram semelhantes entre os dois examinadores, dois doadores relataram queda de cabelo, dois apresentaram unha quebradiça (história) e um doador apresentou fragilidade ungueal no exame físico (dados não mostrados).

3.9 Testes laboratoriais

As dosagens de ferritina, ferro sérico, saturação de transferrina, hemograma e contagem de reticulócitos foram realizadas em amostras de sangue obtidas no momento da doação, através da via usada para coleta de exames sorológicos (**Tabela 6**). Para cada doadora, duas amostras de sangue foram coletadas, um de 3,5 ml em tubo com anticoagulante (EDTA) e o outro de 3 ml em tubo seco. O primeiro tubo foi usado para realizar um hemograma completo com contagem de reticulócitos usando um instrumento de hematologia automatizado (ADVIA 2120i, hematology system), e o segundo para os testes de ferritina, ferro sérico, saturação de transferrina usando um analisador bioquímico automatizado (Abbott AXSYM system). Utilizamos o sistema de informações hospitalares para recuperar os resultados dos testes de todos os pacientes do estudo, após o término da coleta de dados para o estudo. Em tempo, as amostras eram direcionadas para estes tubos no momento inicial da doação, de modo que todas as coletas foram consideradas pré-doação.

Tabela 6: Exames laboratoriais

Exame	Tubo	Volume	Técnica	Equipamento
Hemograma	EDTA (tampa roxa)	3.5 ml	Analisador hematológico automatizado	ADVIA 2120i
Reticulócitos	EDTA (tampa roxa)	(mesmo do hemograma)	Analisador hematológico automatizado	Abbott AXSYM
Ferritina	Tubo seco (tampa vermelha)	1 ml	Analisador automatizado	Abbott AXSYM
Ferro sérico	Mesmo tubo da ferritina	1 ml	Analisado automatizado	Abbott AXSYM
Saturação de transferina	Mesmo tubo da ferritina	1 ml	Analisador automatizado	Abbott AXSYM

3.10 Análise estatística

Para apresentação dos dados, foram utilizadas ferramentas de estatísticas descritivas mostrando médias, medianas, desvio padrão e intervalos de variação conforme destacado em cada tabela ou figura. Variáveis categóricas e contínuas foram comparadas usando o teste Exato de Fisher ou Mann-Whitney, respectivamente. DF foi definida como níveis de ferritina sérica abaixo de 30 ng/ml(34), e anemia foi definida como Hb abaixo de 12,5 g/dl (35). Como o valor exato da ferritina definido como DF não é estabelecido, uma análise de sensibilidade também foi realizada usando como valores de ferritina de corte abaixo da 50^a (mediana) e do 10^o percentil. O desempenho (sensibilidade, especificidade, VPP, VPN e RV) de instrumentos clínicos para a identificação de DF foi determinado utilizando estes diferentes níveis de corte. Todos os dados foram digitados em uma folha do Excel 2007, e todas as análises estatísticas foram realizadas usando o Graphpad Prism v6.0. O valor de P para significância estatística foi <0,05.

4. RESULTADOS

Os resultados são apresentados sob a forma de um artigo científico para submissão.

Evaluation of a quick clinical examination and brief clinical history taking as tools to identify iron deficiency in female blood donors

Authors: Jamesly Joseph¹, PurimCesar¹, Stéphane Saint-Pierre¹, Anamika Dhyani¹, Erich Vinicius De Paula MD, PhD^{1,2}, Nelson Fraiji¹

Affiliations: ¹ Hematology and Hemotherapy Foundation from Amazonas State, Manaus, AM, Brazil; ² Hematology and Hemotherapy Center, University of Campinas, Campinas, SP, Brazil

Corresponding author:

Nelson AbrahamFraiji

Hematology and Hemotherapy Foundation from Amazonas State (HEMOAM)

Av. ConstantinoNery, 4397 - Chapada, Manaus - AM, 69050-002

Email: nelfraiji@gmail.com

Abstract

Background: Recent data show that the frequency of ID is high in blood donors, and that this situation is even more complex in women at reproductive ages due to losses related to menstruation, pregnancy and lactation. Clinically, it manifests itself through generalized fatigue, pica, hair loss, dysphagia, brittle nails, among others. In this study, we evaluated the accuracy of two clinical instruments (CI), based respectively on anamnesis and physical examination (PE), with the objective of detecting iron deficiency without anemia among female blood donors who attended blood collection unit of a public blood center in Brazil (HEMOAM). **Methods:** The study was cross-sectional, descriptive and analytical. The study population consisted of 221 approved blood donors in the blood donation screening process at the HEMOAM central collection unit. The anamnesis CI tool consisted of three questions, focused on: (1) pica symptoms; (2) hair loss; and (3) nail changes, and the CI of PE consisted of a standardized physical examination, we evaluated (1) pallor of the palpebral conjunctiva, and (2) nail weakness. Determinations of serum ferritin, transferrin saturation, serum iron and

hemogram were performed. **Results:** The mean age of the population was 31 years. The frequency of blood donors with ID was 40% (ferritin <30 ng / ml), and 9.9% of the donors had a more severe deficiency (ferritin <30 ng / ml). Regarding the use of the CI, none of the analyzes of the clinical criteria used for the diagnosis of ID presented individually acceptable values of accuracy. By analyzing the three questions in the clinical history together and using the affirmative criterion for only one of them, we noticed a clinically significant increase in the sensitivity of this criterion in the different cutoff points of ferritin and hemoglobin (Hb), as well as higher values of predictive value negative (77%, 94% respectively with ferritin <12 ng / ml). **Conclusion:** Finally, when considered together all the variables that indicate ID, from the clinical point of view presented higher values of sensitivity and negative predictive value, indicating the possibility of using this clinical criterion as a tool for clinical screening for ID among females blood donors, particularly in areas with higher ID prevalence.

Keywords: Iron deficiency. Blood donation. Signs and symptoms.

Introduction

Iron deficiency (ID) is a global health problem and a specific problem for blood donors. An estimation by the World Health Organization (WHO) shows that blood is donated around 112.5 million times globally every year from various types of blood donors. Blood components collected from these donors after processing are an invaluable part of modern medicine(1)

Iron deficiency (ID) is endemic in blood donors, affecting 25-35% of all type of donors with higher prevalence associated among females younger in age (2, 3). Blood donation is associated with the loss of iron during full blood donations (4). The exact loss of iron associated with a donation of approximately 450-500 ml of whole blood depends on the hemoglobin concentration of the donor, and is estimated to be in the range of 200 to 250 mg of iron, equivalent to at least 100 days of food intake. This amount represents approximately 25% of the average iron stores in men and almost 75% of the iron stores in women(5) .

Hemoglobin (Hb) concentration that is used as a screening tool for blood donation has certain limitations, as it cannot differentiate between states with and without iron deficiency(6). The diagnosis of iron deficiency without anemia until today is a challenge, as it may not be recognized for a long period (7). In blood donors, failure to identify these individuals has the potential to further deplete their iron stores, and lead to anemia.

In this context, the availability of clinical tools based on anamnesis and physical examination for the identification of donors with iron deficiency and without anemia would be highly desirable. Data in the literature show that the diagnostic accuracy of the clinical examination for the detection of anemia is heterogeneous (8). In addition, there are no studies that have evaluated clinical instruments for the detection of iron deficiency without anemia among donors.

The objective of this study was to evaluate the accuracy of two clinical instruments, based on anamnesis and physical examination, respectively, for the detection of iron deficiency without anemia among female blood donors who attended blood collection unit of a public blood center in Brazil

Methods

Study population

This is a cross-sectional, descriptive study carried out at the central collection unit of the Hematology and Hemotherapy Foundation (HEMOAM), a public blood bank in Manaus, State of Amazonas, Northern Brazil. Blood donors who passed the blood donation screening process, which includes an interview and an estimate of erythrocyte mass with a threshold of a microhematocrit above 37% were recruited for the study. After the standard screening process of blood donation, donors approved in both stages were invited to participate in the study. A written informed consent was obtained prior to any study procedure. Recruitment took place from Monday to Friday in the morning, consecutively until the recruitment goal of 221 donors was reached. Donors who had a microhematocrit value of more than 42%, and those with false nails were excluded. The study was approved by the research ethics committee of the institution (CAAE 82706418.4.0000.0009).

Clinical Data

Clinical data from donors were obtained through a structured questionnaire specifically elaborated for this project. The questionnaire was applied by one of the investigators (J.J) prior to blood collection, addressing variables related to risk factors and symptoms of iron deficiency, lasting approximately 5 to 10 minutes per donor. The questionnaire included question about menstrual history (duration in days, presence or absence of blood clots), gestational history (number of pregnancies, number of births), gastrointestinal blood loss, and frequency of blood donation.

Clinical instruments for the detection of iron deficiency

In our study, we evaluated the diagnostic accuracy of a standardized clinical instrument (CI), subdivided into an anamnesis tool and a physical examination (PE) tool. The anamnesis CI tool consisted of three questions, focused on: (1) pica symptoms; (2) hair loss; and (3) nail changes, detailed in table 1.

Table 1: Clinical history tool (anamnesis)

<p>Do you feel like eating ice, uncooked rice, coffee or anything out of the ordinary?</p> <p><input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No If yes, specify?</p>
<p>Have you noted hair loss recently?</p> <p><input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No</p>
<p>Do you feel like having weak nails?</p> <p><input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No If yes, specify?</p> <p>Do you feel like your nails are brittle recently?</p> <p><input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No If yes, specify?</p> <p>Did you notice if your nails defoliate recently?</p> <p><input type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No If yes, specify?</p>

* In order to increase the specificity of the CI tool, the presence of nail complaints was only considered positive when the donor responded positively to two of the three questions on nail abnormalities.

The CI of physical examination (PE) consisted of a standardized physical examination, performed by one of the investigators (J.J.). We evaluated (1) pallor of the palpebral conjunctiva, and (2) nail weakness following a previously established protocol (9).

The pallor of the conjunctival mucosa was evaluated in the lower eyelid under natural light. The conjunctiva was considered pale, if the anterior rim of the lower palpebral conjunctiva looked as pale as the deeper posterior rim. Pallor was recorded as absent or present (10)

The physical examination of the nail was performed using a procedure adapted from the publication "Nail as a window of systemic diseases"(9). The donor was placed in a sitting position, facing the examiner, who performed the palpation and inspection of the nail. The 2nd, 3rd and 4th digit of both hands were evaluated. Nails were palpated by digit-pressure on the nail bed of the aforementioned fingers so as to identify fragility, which was classified as "present" or "missing". The classification present in 3 or more of the six nails was recorded,

so that the PE on nail abnormalities yielded the following results: presence or absence of nail fragility (table 2). In cases where there was no nail bed for the examination of the resistance (because it had been gnawed), the case was classified as non-evaluable.

Table 2: Classification and definition of physical examination findings of nail

Presence of nail fragility: reduction of nail resistance, that nail that folds or curves easily to the digit-pressure in the 2nd, 3rd and 4th digit of both hands
Absence nail fragility: with no signs of abnormalities
Nail not evaluable: are cases in which there was no nail bed to assess the resistance (because it has been gnawed or eaten)

Standardization and validation of the IC

Before beginning data collection, two doctors were invited to examine five randomly selected voluntary donors in order to test the standardization and validation of the IC (anamnesis as the physical examination). After the clinical examination was completed by the first physician, a second physician re-examined the donors. Each of the examiners documented their evaluation of the three questions of the anamnesis, the conjunctival pallor and the nail brittleness based on the structure of the previously established clinical method. The results obtained were similar between the two examiners, two donors reported hair loss, two presented brittle nail (history) and one donor presented nail fragility on physical examination (data not shown).

Laboratory parameters

Measurement of ferritin, serum iron, transferrin saturation, blood count and reticulocyte count were performed on blood samples obtained at the time of donation. Complete blood counts including reticulocytes were measured in a hematology analyzer (ADVIA 2120i, hematology system) and biochemical parameters were performed with use of an automated chemistry analyzer (Abbott AXSYM system)

Statistical analyses

Results are expressed as means, medians, standard deviation and ranges. Categorical and continuous variables were compared using the Fisher's Exact or Mann-Whitney test respectively. Iron deficiency (ID) was defined as serum ferritin levels below 30 ng/ml(11), and anemia was defined as Hb below 12.5 g/dl(12). Since the precise value of ferritin defined as ID is not established, a sensitivity analysis was also performed using as a cutoff ferritin values below the 50th (median) and 10th percentile of our population. The diagnostic

performance (sensitivity, specificity, positive and negative predictive value and likelihood ratio) of clinical tools for the identification of ID was determined using these different cutoff levels. All data were entered in an Excel 2007 sheet, and all statistical analyses were performed using Graphpad Prism v6.0. The P value for statistical significance was < 0.05 .

Results

In total, 221 female blood donors were recruited from May to August 2018. The median age of subjects studied was 30, ranging from 16 to 56 years (mean: $31,1 \pm 9.8$ years). Demographic characteristics and the prevalence or risk factors for ID are shown in table 3. Hb, MCV, ferritin, serum iron and transferrin saturation are shown in figure 1. For this study, a ferritin below 30ng/ml was used to define ID. Based on this threshold, the prevalence of ID was 40.27% (89/221). Using as a cutoff ferritin values below the 50th (median) and 10th percentile the prevalence of ID were 49,8% (110/221), 9,95% (22/221) respectively. A total of 12.21% (27/221) female blood donors presented Hb levels below 12.5 in their complete blood counts, of whom 11 donors (40.74%) had a ferritin value below 30ng/ml.

The frequencies of pica, hair loss, nail abnormalities (history), pallor and nail abnormalities (PE) in our population with ID were respectively 9%, 38.2%, 14.6%, 14.6%, 20.2%.

Table 3: Characteristics of the study population

Parameters	n= 221
Patient age , median (range), years	30 (16-59)
Duration of menstruation (Days)	
0 to 5 n (%)	171 (77, 38%)
6 to 10 n (%)	48 (21, 72%)
11 to 15 n (%)	2 (0, 90%)
Presence of Mestrual clots (n=221)	
Yes n (%)	95 (42, 98%)
Non (%)	126 (57, 01%)
Number of pregnancies	
0 to 3 n (%)	210 (95, 03%)
4 to 6 n (%)	9 (4, 07%)
7 to 9 n (%)	2 (0, 90%)
Number of births	

0 n (%)	98 (44, 35%)
1 to 3 n (%)	120(54, 30%)
4 to 7 n (%)	3 (1, 35%)
History of gastrointestinal bleeding	
Yes n (%)	6 (2, 71%)
Non (%)	215 (97, 29%)
Blood donor status (n=221)	
First time donors n (%)	85 (38, 47%)
Repeat donors (%)	136 (61, 53%)

The association between ferritin with number of pregnancies, number of births and duration of menstruation is shown in figure 2. Significant, yet a mild correlation ($p < 0.05$) was observed between ferritin and duration of menstruation ($R=0.19$; $P=0.0037$). There was no significant association of iron status in donors with any other variable.

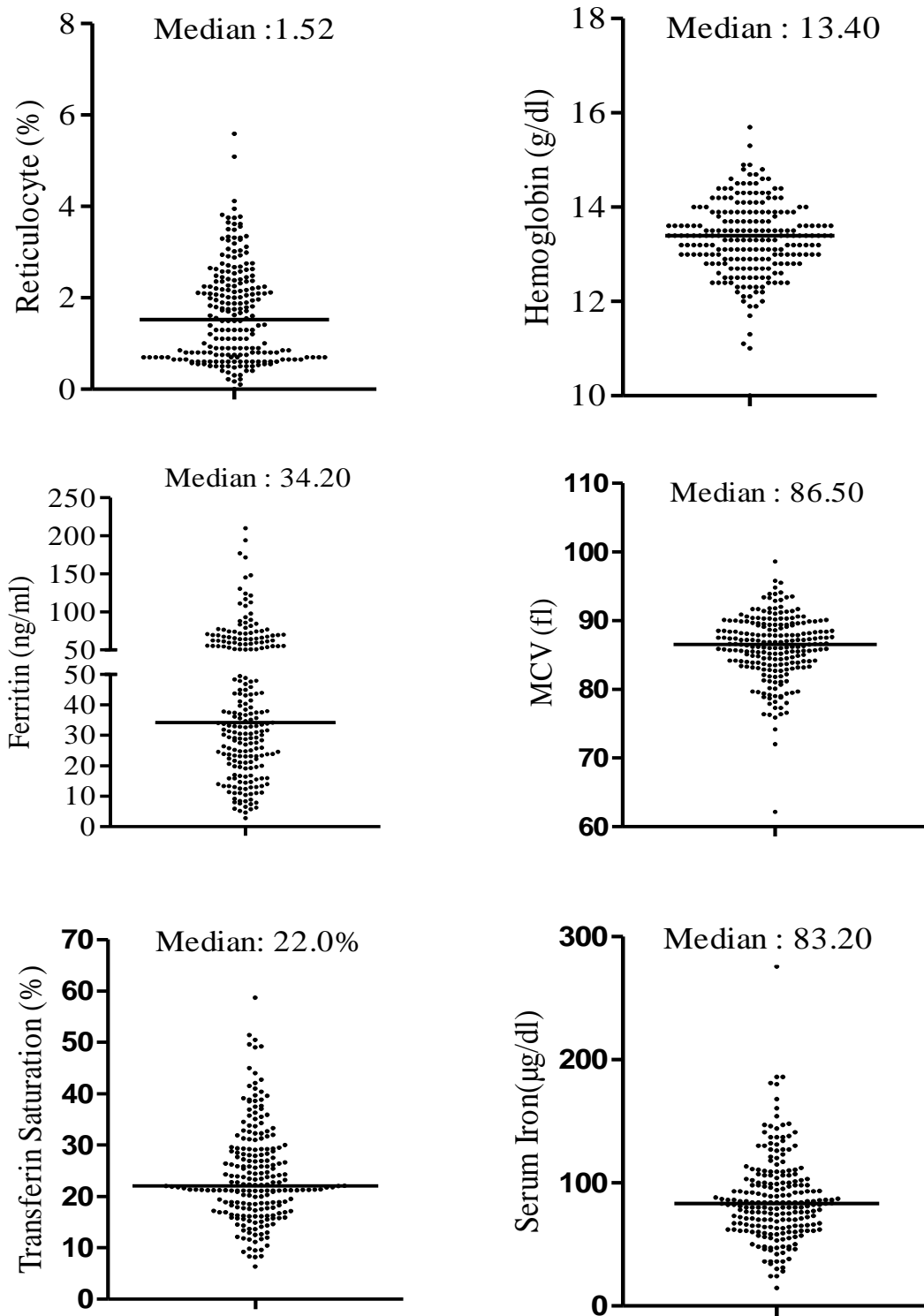


Figure 1: Laboratory parameters of blood donors: Bars indicate median values. Hemoglobin, Hematocrit, Ferritin, MCV, Transferrin Saturation, Serum Iron.

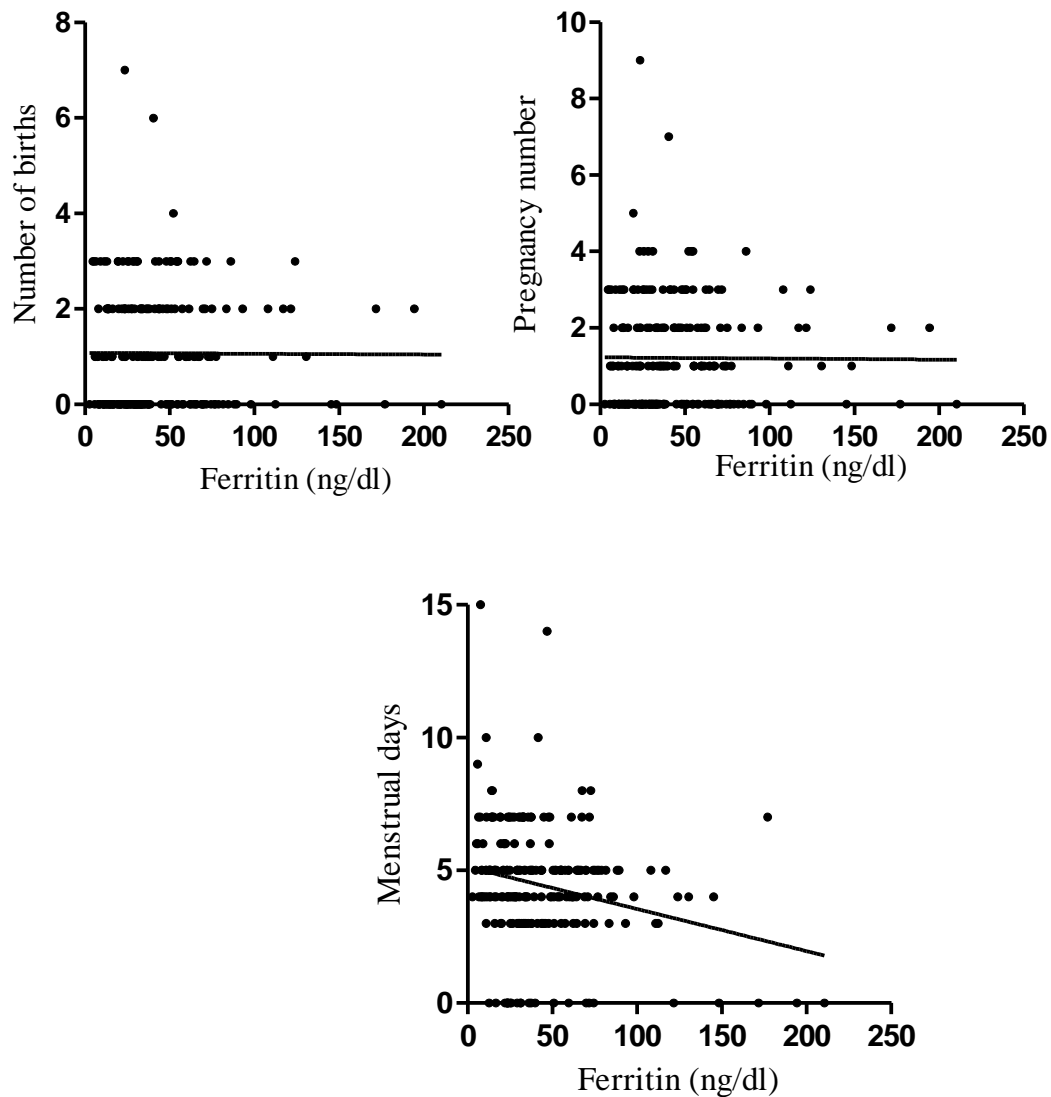


Figure 2: Association between ferritin with number of pregnancies, number of births and duration of menstruation.

Tables 4 to 6 show the sensitivity, specificity, positive and negative predictive values and positive and negative likelihood ratios of the clinical tools for diagnosing iron deficiency, using different cutoff ferritin levels (ferritin below the 50th and 10th percentile) and $Hb < 12.5$. The sensitivities of pica, hair loss and conjunctival nail abnormalities for identifying donors with ID were 8.2, 33.6 and 7.9%, respectively at ferritin level below 34.2 (median). Although the sensitivities of pica in identifying donors with ID were low (8.2% at ferritin < 34.2 , 18.1% at ferritin < 12 and 14.8% at $Hb < 12.5$), for the same ferritin and haemoglobin threshold the specificities of pica were high (91.8%, 86.3%, 92.8%

respectively), indicating that the presence of pica was associated with a high probability that a female donor was iron deficient.

In comparison, nail abnormalities (history) had slightly higher specificities of (86.3%, 84.6%, 81%) but worse values for all other parameters: sensitivities (7.9%, 33.3%, 33.3%), positives predictive values (35.7%, 71.4%, 23.5%), negatives predictive values (49.5%, 52.2%, 87.4%), likelihoods ratios (0.6, 2.1, 1.7).

Table 4: The performance (sensitivity, specificity, positive and negative predictive values and likelihood ratio) of clinical tools for the identification of ID using ferritin below the 50th percentile (median).

Clinical tools	Sensitivity, % (95%CI)	Specificity,% (95%CI)	PPV *, % (95% CI)	NPV **, % (95%CI)	LR#
Iron deficiency defined as ferritin < 34 ng/ml					
<i>Anamnesis</i>					
Presence of pica	8.2 (3.8-14.9)	91.8 (85-96.1)	50 (26-74)	50 (43-57.1)	1
Hair loss	33.6 (24.9-43.2)	64.5 (54.8-73.4)	48.6 (37-60.4)	49.3 (40.8-67.7)	0.9
Nail abnormalities	7.9 (2.6-17.6)	86.3 (76.6-93.5)	35.7 (12.7-64.8)	49.5 (40.1-59)	0.6
<i>Physical exam</i>					
Pallor	16.5 (10-24.8)	83.4 (75.1-89.9)	50 (32.9-67)	50 (42.5-57.4)	1
Nail abnormalities	31.2 (21.3-42.5)	63.1 (51.3-73.9)	47.1 (33.3-61.3)	46.6 (36.7-56.7)	0.8

* Positive predictive value; ** Negative predictive value; # Likelihood ratio

Table 5: The performance (sensitivity, specificity, positive and negative predictive values and likelihood ratio) of clinical tools for the identification of ID using ferritin below the 10th percentile.

Clinical tools	Sensitivity, % (95 CI)	Specificity, % (95 CI)	PPV *, % (95 CI)	NPV **, % (95 CI)	LR #
Iron deficiency defined as ferritin <12 ng/ml					
<i>Anamnesis</i>					
Presence of pica	18.1 (5.2-40.2)	86.3 (65-97)	57.1 (18.4-90.1)	51.3 (34.4-68)	1.3
Hair loss	36.3	54.5	44.4	46.1	0.8

	(17.2-59.3)	(32.3-75.6)	(21.5-69.2)	(26.6-66.6)	
Nail abnormalities	33.3 (11.8-61.6)	84.6 (54.5-98)	71.4 (29-96.3)	52.2 (29.8-74.2)	2.1
<i>Physical exam</i>					
Pallor	14.2 (3-36,3)	77.2 (54.6-92.1)	37.5 (8.5-75.5)	48.5 (31.3-66)	0.6
Nail abnormalities	50 (24.6-75.3)	66.6 (38.3-88.1)	61.5 (31.6-86.1)	55.5 (30.7-78.4)	1.5

* Positive predictive value; ** Negative predictive value; # Likelihood ratio;

Table 6: The performance (sensitivity, specificity, positive and negative predictive values and likelihood ratio) of clinical tools for the identification of ID using Hb< 12,5 g/dl.

Clinical tools	Sensitivity, % (95 CI)	Specificity, % (95 CI)	PPV *, % (95 CI)	NPV **, % (95 CI)	LR #
Anemia defined as Hb<12.5 g/dl					
<i>Anamnesis</i>					
Presence of pica	14.8 (4.2-33.7)	92.8 (88.1-96)	22.2 (6.4-47.6)	88.6 (83.5-92.7)	2
Hair loss	25.9 (11.1-46.3)	63.9 (56.7-70.6)	9.1 (3.7-17.8)	86.1 (79.3- 91.3)	0.7
Nail abnormalities	33.3 (15.6-55.3)	81 (73.4-87.2)	23.5 (10.7-41.1)	87.4 (80.3-92.6)	1.7
<i>Physical exam</i>					
Pallor	18.5 (6.3-38.1)	83.8 (77.8-88.7)	13.9 (4.7-29.5)	88 (82.3-92.3)	1.1
Nail abnormalities	38.9 (17.3-64.2)	66.2 (57.7-74)	12.9 (5.3-24.9)	89.3 (81.7-94.5)	1.1

* Positive predictive value; ** Negative predictive value; # Likelihood ratio

Next, we evaluated the combined use of all three clinical history questions based on the rationale of using them as a screening for iron deficiency during blood donations. As shown in table 7, the frequency of ID was significantly higher in donors with at least one positive answer, yielding a sensitivity of 77.2% at ferritin cut off point below 12 ng/ml. For a ferritin threshold below 30ng/ml, 64% (57/89) of donors reported history of pica/hair/nail abnormalities, compared with 49% (65/132) of donors with normal iron stores. Furthermore,

41% (57/137) of all donors with history of pica/hair loss/nail abnormalities in the screening process had ID.

Table 7: The performance (sensitivity, specificity, positive and negative predictive values and likelihood ratio) of all three clinical history questions for the identification of ID using different cutoff points of ferritin and Hb.

Clinical tools	Sensitivity, % (95 CI)	Specificity, % (95 CI)	PPV *, % (95 CI)	NPV **, % (95 CI)	LR #
<i>Anamnesis</i>					
Iron deficiency defined as ferritin< 34 ng/ml					
History of pica/hair/nail abnormalities	63.6 (53.9-72.6)	41 (31.8-50.7)	51.4 (42.7-60.1)	53.4 (42.4-64.3)	1
Iron deficiency defined as ferritin<12 ng/ml					
History of pica/hair/nail abnormalities	77.2 (54.6-92.1)	39.7 (32.8-46.8)	12.4 (7.3-19.1)	94 (86.6-98)	1.3
Anemia defined as Hb<12.5 g/dl					
History of pica/hair/nail abnormalities	62.9 (43.2-80.6)	40.8 (33.7-48.2)	13.3 (7.8-20.5)	88.3 (79.6-94.2)	1

* Positive predictive value; ** Negative predictive value; # Likelihood ratio

Discussion

One of the general and common conditions for safe donation in the world is that donors must have sufficient iron content to reduce post-donation iron deficiency (13). The detection of ID in blood donors is important not only to prevent donors from becoming anemic after subsequent blood donations, but also because iron deficiency without anemia affects several other cellular processes, since the iron is an important component of many enzymes. For example, early studies have suggested that ID also affects DNA synthesis, the immune system, and energy metabolism through impaired mitochondrial electron transport(14). Therefore, maintaining iron balance is a major challenge for the blood donor population, especially for female donors (15). Given a loss of approximately 200 to 250 mg of iron in each donation, in addition to losses related to menstruation that may exceed 42 mg of iron per cycle, depending on the intensity of the menstrual flow, this situation already increases the risk of producing severe ID. In addition if the donor have recent history of pregnancy associated with consumption of about 700 mg of iron, the vulnerability to ID is even

greater(8). So the recruitment of women blood donors must ensure their health, given the altruistic and voluntary nature of a donation(16, 17).The objective of our study is in this context to prospectively evaluate the accuracy of two clinical instruments, based on anamnesis and physical examination, respectively, for the detection of iron deficiency without anemia among blood donor.

In Brazil, as in most countries in the world, we do not use biochemical markers to estimate iron status in blood donors. Numerous cross-sectional and longitudinal studies have shown high ID rates among blood donors. Cablet al ., 2012 showed that in the US ID affects 27.1% of women who donate blood with a ferritin level below 12 ng/ml(2). In the Danish study, ID was reported in 39% of female blood donors, with a ferritin level below 15 ng/ml (3). In a large national study of ferritin testing in Canadian blood donors, Goldman et al., 2017 reported a large ID cases in the total blood donor population 32.7% in the first-time donor group, and in 65.1% in the group of repeat donors, common level of ferritin below 25 ng/ml(18). In our study, approximately 40% of donors presented iron deficiency (serum ferritin < 30 ng/ml), and 9.9% presented a more severe iron deficiency (serum ferritin < 12 ng/ml).

Another aspect to be considered in this study concerns the importance of CI as tool diagnoses of ID in blood donors in clinical screening process. Despite a large number of theses and scientific articles involving ID in donors worldwide, there are very few reports that include questions of clinical data related to pica, hair loss, nail abnormalities in ID identification in the same population. In fact, the vast majority of these studies and reports have addressed laboratorial, epidemiological aspects of ID in blood donors.

Regarding the pica symptom, case reports and studies in the literature have documented the resolution of pica after ID treatment, although the etiology of pica is poorly understood in the context of ID(19). In our study, it was observed that 9% of our population with ID reported pica manifestations, in addition, 44% of all donors with a history of pica in the ID screening process. Similar findings were observed by Bryant and colleagues, where pica was reported in 11% of donors and 73% of all reporting donors had ID(20). Similar findings were also reported by Singh et al., Spencer et al, where the frequency of pica increased with the degree of iron depletion (21, 22).

Regarding hair loss, the presented data showed low sensitivity (33.6%) and specificity (64.5%), with a likelihood ratio (0.9) with no diagnostic value. This finding persisted even with the use of different cut-off points of ferritin and Hb. Our data coincide with what was

reported in a literature review, stating that currently, there is insufficient evidence to recommend universal screening for ID in patients with hair loss(23).

In relation to nail abnormalities, some studies and review of the literature has documented the relationship between ID and epithelial changes. Waldeström Hellén, and in 1938, were the first to describe epithelial changes in most patients with iron depletion, and the most common change was the fragility(24). Sobolewski and colleagues measured the iron content of the human nails in four groups by means of an atomic absorption spectrophotometry technique and compared with other measurements of the iron status, including the bone marrow. They concluded that the iron status of the individual was reflected by the amount of iron present in the nail samples, and in that group with the diagnosis of ID, the five participants all reported symptoms of brittle nails(24). In a review of recent literature, Camaschella reported that epithelial changes like dry mouth, Cheilitis, Plummer-vinson syndrome, nail changes are clinical signs and symptoms observed in ID of evolution(25). In our study the evaluation of nail abnormalities, both in the anamnesis and in the physical examination, revealed low values of sensitivity and specificity in the different cutoff points of ferritin and Hb used (table 4 to 6).

In relation to the pallor of the palpebral conjunctiva, the data presented here showed low sensitivity with the use of cutoff points of ferritin. Only when we use the cutting point based on Hb < 12.5 g/dl to conjunctival pallor presented a slightly higher specificity, to 83.8%. However, such an indicator needs to be evaluated with caution, considering the non-significant likelihood ratio and positive predictive value. In this context, our results reinforce data in the national and international literature that point to the low accuracy of pallor to diagnose mild anemia (26, 27).

When we observe that none of the analyses presented individually accepted accuracy values, we set out to analyse the accuracy of combination of criteria for the identification of donors with ID. The rationale of this strategy was to try to create a panel of questions that applied to the screening could be used to the exclusion of donors with higher risk of ID, although part of these results were false positives. We understand that this strategy makes sense because of the deleterious potential of donor blood donation with ID compared to the risks of exclusion, followed by more careful investigation of ID with other tests. In other words, following the logic of other risk mitigation strategies among blood donors, a test with greater sensitivity, although this would cost in specificity. When there are analysed jointly three questions of the clinical history, and using like criterion of positivity the affirmative answer for only one of them, we notice a clinically significant increase of the sensibility of

this criterion in the different points of cut of ferritina and Hb, as well as values more elevated of negative predictive values. We believe that these values make reasonable proposition of this criterion as a tool for identifying blood donors with ID. Of course this proposal brings with it the need for careful consideration of the costs (investigation of iron deficiency by laboratory methods and reduced donor pool) and benefits (reduction of risk for the donor). To the extent that the benefit will be so much bigger as the prevalence of ID in the population, this strategy can be particularly attractive in regions with higher risk of this nutritional deficiency..

In conclusion, the clinical criteria used for the diagnosis of ID among females blood donors, when analyzing individually, presented low sensitivity and specificity for ID detection. However when used together, showed a greater sensitivity and negative predictive value, indicating the possibility of your use as screening instrument for ID clinic among blood donors, particularly in areas with higher prevalence of ID. New studies and reflections are required for accurate determination of the costs and benefits of this strategy

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Acknowledgments

This study was financially supported by The Hematology and Hemotherapy Foundation Center (HEMOAM).

References

1. Rigas AS, Pedersen OB, Magnussen K, Erikstrup C, Ullum H. Iron deficiency among blood donors: experience from the Danish Blood Donor Study and from the Copenhagen ferritin monitoring scheme. *Transfus Med.* 2017.
2. Cable RG, Steele WR, Melmed RS, Johnson B, Mast AE, Carey PM, et al. The difference between fingerstick and venous hemoglobin and hematocrit varies by sex and iron stores. *Transfusion.* 2012;52(5):1031-40.
3. Rigas AS, Sørensen CJ, Pedersen OB, Petersen MS, Thørner LW, Kotzé S, et al. Predictors of iron levels in 14,737 Danish blood donors: results from the Danish Blood Donor Study. *Transfusion.* 2014;54(3 Pt 2):789-96.

4. Page EA, Coppock JE, Harrison JF. Study of iron stores in regular plateletpheresis donors. *Transfus Med.* 2010;20(1):22-9.
5. Kiss JE. Laboratory and genetic assessment of iron deficiency in blood donors. *Clin Lab Med.* 2015;35(1):73-91.
6. Baart AM, van Noord PA, Vergouwe Y, Moons KG, Swinkels DW, Wiegerinck ET, et al. High prevalence of subclinical iron deficiency in whole blood donors not deferred for low hemoglobin. *Transfusion.* 2013;53(8):1670-7.
7. Soppi ET. Iron deficiency without anemia - a clinical challenge. *Clin Case Rep.* 2018;6(6):1082-6.
8. Killip S, Bennett JM, Chambers MD. Iron deficiency anemia. *Am Fam Physician.* 2007;75(5):671-8.
9. Singal A, Arora R. Nail as a window of systemic diseases. *Indian Dermatol Online J.* 2015;6(2):67-74.
10. Sheth TN, Choudhry NK, Bowes M, Detsky AS. The relation of conjunctival pallor to the presence of anemia. *J Gen Intern Med.* 1997;12(2):102-6.
11. Patel EU, White JL, Bloch EM, Grabowski MK, Gehrie EA, Lokhandwala PM, et al. Association of blood donation with iron deficiency among adolescent and adult females in the United States: a nationally representative study. *Transfusion.* 2019.
12. Vuk T, Magnussen K, De Kort W, Folléa G, Liumbruno GM, Schennach H, et al. International forum: an investigation of iron status in blood donors. *Blood Transfus.* 2017;15(1):20-41.
13. Vassallo RR, Bravo MD, Kamel H. Ferritin testing to characterize and address iron deficiency in young donors. *Transfusion.* 2018;58(12):2861-7.
14. Ward RJ, Crichton RR, Taylor DL, Della Corte L, Srail SK, Dexter DT. Iron and the immune system. *J Neural Transm (Vienna).* 2011;118(3):315-28.

15. Waldvogel S, Pedrazzini B, Vaucher P, Bize R, Cornuz J, Tissot JD, et al. Clinical evaluation of iron treatment efficiency among non-anemic but iron-deficient female blood donors: a randomized controlled trial. *BMC Med.* 2012;10:8.
16. Bianco C, Brittenham G, Gilcher RO, Gordeuk VR, Kushner JP, Sayers M, et al. Maintaining iron balance in women blood donors of childbearing age: summary of a workshop. *Transfusion.* 2002;42(6):798-805.
17. Newman B. Iron depletion by whole-blood donation harms menstruating females: the current whole-blood-collection paradigm needs to be changed. *Transfusion.* 2006;46(10):1667-81.
18. Goldman M, Uzicanin S, Osmond L, Scalia V, O'Brien SF. A large national study of ferritin testing in Canadian blood donors. *Transfusion.* 2017;57(3):564-70.
19. Barton JC, Bertoli LF. Pica associated with iron deficiency or depletion: clinical and laboratory correlates in 262 non-pregnant adult outpatients. *BMC Blood Disord.* 2010;10:9.
20. Bryant BJ, Yau YY, Arceo SM, Hopkins JA, Leitman SF. Ascertainment of iron deficiency and depletion in blood donors through screening questions for pica and restless legs syndrome. *Transfusion.* 2013;53(8):1637-44.
21. Singh A, Chaudhary R, Sonker A, Pandey HC. Importance of donor history of restless leg syndrome and pica to assess iron deficiency. *Transfus Apher Sci.* 2016;54(2):259-61.
22. Spencer BR, Kleinman S, Wright DJ, Glynn SA, Rye DB, Kiss JE, et al. Restless legs syndrome, pica, and iron status in blood donors. *Transfusion.* 2013;53(8):1645-52.
23. Trost LB, Bergfeld WF, Calogeras E. The diagnosis and treatment of iron deficiency and its potential relationship to hair loss. *J Am Acad Dermatol.* 2006;54(5):824-44.
24. Sobolewski S, Lawrence AC, Bagshaw P. Human nails and body iron. *J Clin Pathol.* 1978;31(11):1068-72.
25. Camaschella C. Iron deficiency. *Blood.* 2019;133(1):30-9.
26. Spinelli MG, Souza JM, Souza SB, Sesoko EH. [Reliability and validity of palmar and conjunctival pallor for anemia detection purposes]. *Rev Saude Publica.* 2003;37(4):404-8.

27. Kalantri A, Karambelkar M, Joshi R, Kalantri S, Jajoo U. Accuracy and reliability of pallor for detecting anaemia: a hospital-based diagnostic accuracy study. PLoS One. 2010;5(1):e8545.

5. DISCUSSÃO

Uma das condições gerais e comuns para uma doação segura no mundo é que os doadores devem ter um estoque de ferro suficiente para reduzir uma possível DF pós-doação(36). A detecção de DF em doadores de sangue é importante não apenas para evitar que os doadores se tornem anêmicos após doações de sangue subsequentes, mas também porque a deficiência de ferro sem anemia afeta vários outros processos celulares, já que o ferro é um elemento importante de muitas enzimas. Por exemplo, estudos iniciais sugeriram que a DF também afeta a síntese de DNA, o sistema imunológico e, o metabolismo energético por meio do transporte de elétrons mitocondrial prejudicado(37). Portanto, manter o equilíbrio de ferro é um grande desafio para a população de doadores de sangue, especialmente para doadores de sexo feminino (38). Dada uma perda de aproximadamente 200 a 250 mg de ferro em cada doação, somada às perdas relacionadas à menstruação que podem exceder 42 mg de ferro por ciclo, dependendo da intensidade do fluxo menstrual, essa situação já eleva o risco de produzir DF severa. Além disso, se a doadora tem história recente de gravidez, associada a consumo de cerca de 700 mg de ferro, a vulnerabilidade para DF é ainda maior (22). Então o recrutamento de mulheres doadoras de sangue deve assegurar a saúde delas, dada a natureza altruísta e voluntária de uma doação(39, 40). O objetivo de nosso estudo insere-se neste contexto ao avaliar prospectivamente a acurácia de dois instrumentos clínicos, baseados em anamnese e exame físico, respectivamente, para a detecção de deficiência de ferro sem anemia entre doadoras de sangue.

Em relação ao perfil demográfico, a nossa população revelou uma mediana de 30 anos, com a idade mínima de 16 e a máxima de 59 anos; 38% estavam doando sangue pela primeira vez e 61% das doadoras referiam pelo menos uma doação nos últimos 12 meses. Perfil demográfico semelhante foi observado na população de doadoras do Hemocentro da Santa Casa de São Paulo, no estudo de Cançado e colaboradores(41).

No Brasil, como na maioria dos países do mundo, não realizamos marcadores para estimar o status de ferro em doadores de sangue. Numerosos estudos transversais e longitudinais mostraram frequências elevadas de DF entre doadores de sangue. Cable et al, mostraram que nos EUA a DF acomete em 27,1% das mulheres doadoras de sangue com um nível de ferritina abaixo de 12 ng/ml (42). No estudo Dinamarquês, a DF foi relatada em 39% das mulheres doadoras de sangue, com um nível de ferritina abaixo de 15 ng/ml (24). Em um grande estudo nacional de testes de ferritina em doadores de sangue canadenses, Goldman et al., 2017 reportaram ampla DF na população de doadoras de sangue total: 32,7% em grupo de doadoras de primeira vez, e em 65,1% em grupo de doadoras de repetição, comum nível de

ferritina abaixo de 25 ng/dl (43). Em 300 doadores do Hemocentro da Santa Casa de São Paulo, foi encontrada deficiência de ferro em 11% dos doadores, atingindo 5,5% dos homens e 31,7% das mulheres (44). No nosso estudo, cerca de 40% das doadoras apresentam deficiência de ferro (ferritina<30 ng/ml), e 9,9% apresentaram uma deficiência de ferro mais grave (ferritina<12 ng/ml).

Outro aspecto a ser considerado neste estudo diz respeito a importância do IC como ferramenta diagnóstica de DF em doadores de sangue no processo de triagem clínico. Apesar de número grande de teses e artigos científicos envolvendo DF em doadores no mundo, há muito poucos relatos que incluam questões de dados clínicos relacionados a pica, alterações capilares, alterações ungueais na identificação DF na mesma população. De fato, a grande maioria destes estudos e teses abordaram aspectos laboratoriais, epidemiológicos de DF em doadores de sangue.

Em relação ao sintoma de pica, relatos de casos e estudos na literatura têm documentado a resolução de pica após o tratamento da DF, embora a etiologia da mesma seja pouco compreendida no contexto da DF(23). No nosso estudo, foi observado que 9% da nossa população com DF relataram manifestações de pica, além disso, 44 % de todas as doadoras com histórico de pica no processo de triagem tinham DF. Achados semelhantes foram observados por Bryant e colaboradores, onde a pica foi relatada em 11% dos doadores e 73% de todos os doadores com relatos de pica tinham DF (45). Achados similares foram também reportados por Singh e colaboradores, Spencer et al, onde a frequência de pica aumentava com o grau de depleção de ferro (46, 47).

Em relação à queda de cabelo, os dados apresentados mostraram baixa sensibilidade 33,6% e especificidade (64,5%), com uma razão de verossimilhança 0.9, sem valor diagnóstico. Este achado persistiu mesmo com o uso de diferentes pontos de corte de ferritina e hemoglobina. Nossos dados coincidem com o que foi relatado em uma revisão de literatura, afirmando que atualmente, não há evidências suficientes para recomendar a triagem universal para DF em pacientes com queda de cabelo(48).

Em relação as anormalidades de unha, alguns estudos e revisão da literatura têm documentados a relação entre DF e as alterações epiteliais de unha. Waldeström e Hellén, em 1938, foram uns dos primeiros em descrever as alterações epiteliais na maioria dos pacientes com depleção de ferro, e a mudança mais comum foi a fragilidade(49). Sobolewski e colaboradores mediram o teor de ferro das unhas humanas em quatro grupos por meio de uma técnica de espectrofotometria de absorção atômica e comparado com outras medidas do estado do ferro, incluindo a medula óssea. Eles concluíram que o estado de ferro do indivíduo

foi refletido pela quantidade de ferro presente nas amostras de unha, e nesse grupo com DF, os cinco participantes relataram sintomas de unhas quebradiças. (49). Em uma revisão de literatura recente, Camaschella relatou que as alterações epiteliais como boca seca, queilite, síndrome de Plummer-vinson, alterações da unha são sinais e sintomas clínicos observados na DF de longa data de evolução(1). No nosso estudo a avaliação das alterações da unha, tanto na anamnese e quanto no exame físico, revelaram valores baixos de sensibilidade e especificidade nos diferentes pontos de corte de ferritina e hemoglobina utilizados (tabela 4 a 6).

Em relação à palidez da conjuntiva palpebral, os dados daqui apresentados mostraram baixa sensibilidade com o uso dos pontos de corte da ferritina. Apenas quando usamos o ponto de corte baseado na $Hb < 12,5$ g/dl a palidez conjuntival apresentou uma especificidade um pouco maior, de 83,8%. No entanto, tal indicador necessita ser avaliado com cautela, tendo-se em vista os valores não significativos de razão de verossimilhança e de valor preditivo positivo. Nesse contexto, nossos resultados reforçam os dados na literatura nacional e internacional que apontam para a baixa acurácia da palidez para diagnosticar anemia leve (50, 51).

Ao observamos que nenhuma das análises apresentavam individualmente valores de acurácia aceitáveis, partimos para a análise da acurácia de combinação dos critérios para a identificação de doadoras com DF. O racional desta estratégia foi tentar criar um painel de perguntas que aplicado à triagem, poderia ser usado para a exclusão de doadores com maior risco de DF, ainda que parte destes resultados fossem falsos positivos. Entendemos que esta estratégia faz sentido devido ao potencial deletério de uma doação de sangue em doadora com DF em comparação aos riscos de uma exclusão, seguida por investigação mais cuidadosa da DF com outros testes. Em outras palavras, seguindo a lógica de outras estratégias de mitigação de risco entre doadores de sangue, um teste com maior sensibilidade, ainda que isso custasse em especificidade. Analisando-se conjuntamente as três perguntas da história clínica, e usando como critério de positividade a resposta afirmativa para apenas uma delas, notamos um aumento clinicamente significativo da sensibilidade deste critério nos diferentes pontos de corte de ferritina e Hb, assim como valores mais elevados de valor preditivo negativo. Entendemos que estes valores tornam razoável a proposição deste critério como ferramenta para identificação de doadoras de sangue com DF. Naturalmente esta proposta traz consigo a necessidade de cuidadosa reflexão sobre os custos (investigação de deficiência de ferro por métodos laboratoriais e redução do pool de doadoras) e benefícios (redução de risco para as doadoras). Na medida em que o benefício será tão maior quanto a prevalência de DF

na população, esta estratégia pode ser particularmente atrativa em regiões com maior risco desta carência nutricional.

6. CONCLUSÕES

- A DF é um problema potencial para todos os doadores de sangue. Investigações laboratoriais para estimativa de estoques de ferro não são viáveis para cada doador de sangue.
- Os critérios clínicos utilizados para diagnóstico de DF entre doadoras de sangue, quando analisando individualmente apresentaram baixas sensibilidade e especificidade para detecção de DF.
- Contudo quando utilizados conjuntamente, apresentaram maiores valores de sensibilidade e de valor preditivo negativo, indicando a possibilidade de seu uso como instrumento de triagem clínica para DF entre doadoras de sangue, particularmente em áreas com maior prevalência de DF.
- Novos estudos e reflexões são necessários para determinação precisa dos custos e benefícios desta estratégia.

7.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Camaschella C. Iron deficiency. *Blood*. 2019;133(1):30-9.
2. Haas JD, Brownlie T. Iron deficiency and reduced work capacity: a critical review of the research to determine a causal relationship. *J Nutr*. 2001;131(2S-2):676S-88S; discussion 88S-90S.
3. Lopez A, Cacoub P, Macdougall IC, Peyrin-Biroulet L. Iron deficiency anaemia. *Lancet*. 2016;387(10021):907-16.
4. Kassebaum NJ, Jasrasaria R, Naghavi M, Wulf SK, Johns N, Lozano R, et al. A systematic analysis of global anemia burden from 1990 to 2010. *Blood*. 2014;123(5):615-24.
5. Milman N. Anemia--still a major health problem in many parts of the world! *Ann Hematol*. 2011;90(4):369-77.
6. Peyrin-Biroulet L, Williet N, Cacoub P. Guidelines on the diagnosis and treatment of iron deficiency across indications: a systematic review. *Am J Clin Nutr*. 2015;102(6):1585-94.
7. Camaschella C. Iron-deficiency anemia. *N Engl J Med*. 2015;372(19):1832-43.
8. Auerbach M, Adamson JW. How we diagnose and treat iron deficiency anemia. *Am J Hematol*. 2016;91(1):31-8.
9. Pasricha SR, Drakesmith H, Black J, Hipgrave D, Biggs BA. Control of iron deficiency anemia in low- and middle-income countries. *Blood*. 2013;121(14):2607-17.
10. Mujica-Coopman MF, Brito A, López de Romaña D, Ríos-Castillo I, Coris H, Olivares M. Prevalence of Anemia in Latin America and the Caribbean. *Food Nutr Bull*. 2015;36(2 Suppl):S119-28.
11. Ferreira AA, Santos RV, Souza JAM, Welch JR, Coimbra CEA. Anemia and hemoglobin levels among Indigenous Xavante children, Central Brazil. *Rev Bras Epidemiol*. 2017;20(1):102-14.
12. Batista Filho, Malaquias, Ariani Impieri De Souza, and Cristiane Campello Bresani. Anemia Como Problema de Saúde Pública: Uma Realidade Atual. *Ciência & Saúde Coletiva*. 2008; 13: 1917–22.
13. Kiss JE, Vassallo RR. How do we manage iron deficiency after blood donation? *Br J Haematol*. 2018;181(5):590-603.
14. Hashimoto Y, Kim DJ, Adams JC. The roles of fascins in health and disease. *J Pathol*. 2011;224(3):289-300.
15. Grotto, Helena Z. W. Fisiologia E Metabolismo Do Ferro. *Revista Brasileira de Hematologia E Hemoterapia*. 2010; 32: 08–17.

16. Kiss JE, Birch RJ, Steele WR, Wright DJ, Cable RG. Quantification of body iron and iron absorption in the REDS-II Donor Iron Status Evaluation (RISE) study. *Transfusion*. 2017;57(7):1656-64.
17. Sharp P, Srai SK. Molecular mechanisms involved in intestinal iron absorption. *World J Gastroenterol*. 2007;13(35):4716-24.
18. Haehling, Stephan Von, Ewa A. Jankowska, Dirk J. Van Veldhuisen, Piotr Ponikowski, and Stefan D. Anker. Iron Deficiency and Cardiovascular Disease. *Nature Reviews Cardiology*. 2015; 12 (11): 659–69.
19. Fuqua BK, Vulpe CD, Anderson GJ. Intestinal iron absorption. *J Trace Elem Med Biol*. 2012;26(2-3):115-9.
20. Muñoz M, Villar I, García-Erce JA. An update on iron physiology. *World J Gastroenterol*. 2009;15(37):4617-26.
21. Baart AM, van Noord PA, Vergouwe Y, Moons KG, Swinkels DW, Wiegerinck ET, et al. High prevalence of subclinical iron deficiency in whole blood donors not deferred for low hemoglobin. *Transfusion*. 2013;53(8):1670-7.
22. Killip S, Bennett JM, Chambers MD. Iron deficiency anemia. *Am Fam Physician*. 2007;75(5):671-8.
23. Barton JC, Bertoli LF. Pica associated with iron deficiency or depletion: clinical and laboratory correlates in 262 non-pregnant adult outpatients. *BMC Blood Disord*. 2010;10:9.
24. Rigas AS, Sørensen CJ, Pedersen OB, Petersen MS, Thørner LW, Kotzé S, et al. Predictors of iron levels in 14,737 Danish blood donors: results from the Danish Blood Donor Study. *Transfusion*. 2014;54(3 Pt 2):789-96.
25. Milman N, Kirchhoff M. Influence of blood donation on iron stores assessed by serum ferritin and haemoglobin in a population survey of 1433 Danish males. *Eur J Haematol*. 1991;47(2):134-9.
26. Spencer B. Blood donor iron status: are we bleeding them dry? *Curr Opin Hematol*. 2013;20(6):533-9.
27. Waldvogel S, Pedrazzini B, Vaucher P, Bize R, Cornuz J, Tissot JD, et al. Clinical evaluation of iron treatment efficiency among non-anemic but iron-deficient female blood donors: a randomized controlled trial. *BMC Med*. 2012;10:8.
28. McGee S. Simplifying likelihood ratios. *J Gen Intern Med*. 2002;17(8):646-9.
29. Buck AA, Gart JJ. Comparison of a screening test and a reference test in epidemiologic studies. I. Indices of agreement and their relation to prevalence. *Am J Epidemiol*. 1966;83(3):586-92.
30. Galen RS. Letter: Predictive value of laboratory tests. *Am J Cardiol*. 1975;36(4):536-8.

31. Butt Z, Ashfaq U, Sherazi SF, Jan NU, Shahbaz U. Diagnostic accuracy of "pallor" for detecting mild and severe anaemia in hospitalized patients. *J Pak Med Assoc.* 2010;60(9):762-5.
32. Sheth TN, Choudhry NK, Bowes M, Detsky AS. The relation of conjunctival pallor to the presence of anemia. *J Gen Intern Med.* 1997;12(2):102-6.
33. Singal A, Arora R. Nail as a window of systemic diseases. *Indian Dermatol Online J.* 2015;6(2):67-74.
34. Patel EU, White JL, Bloch EM, Grabowski MK, Gehrie EA, Lokhandwala PM, et al. Association of blood donation with iron deficiency among adolescent and adult females in the United States: a nationally representative study. *Transfusion.* 2019.
35. Vuk T, Magnussen K, De Kort W, Folléa G, Liunbruno GM, Schennach H, et al. International forum: an investigation of iron status in blood donors. *Blood Transfus.* 2017;15(1):20-41.
36. Vassallo RR, Bravo MD, Kamel H. Ferritin testing to characterize and address iron deficiency in young donors. *Transfusion.* 2018;58(12):2861-7.
37. Ward RJ, Crichton RR, Taylor DL, Della Corte L, Srai SK, Dexter DT. Iron and the immune system. *J Neural Transm (Vienna).* 2011;118(3):315-28.
38. Waldvogel S, Pedrazzini B, Vaucher P, Bize R, Cornuz J, Tissot JD, et al. Clinical evaluation of iron treatment efficiency among non-anemic but iron-deficient female blood donors: a randomized controlled trial. *BMC Med.* 2012;10:8.
39. Bianco C, Brittenham G, Gilcher RO, Gordeuk VR, Kushner JP, Sayers M, et al. Maintaining iron balance in women blood donors of childbearing age: summary of a workshop. *Transfusion.* 2002;42(6):798-805.
40. Newman B. Iron depletion by whole-blood donation harms menstruating females: the current whole-blood-collection paradigm needs to be changed. *Transfusion.* 2006;46(10):1667-81.
41. CANÇADO, R. D.; Luciana G. Fonseca; Marcelo R. C. Claro; Flávia S. Tajara; Dante M; Langhi Junior; Carlos S. Chiattonne. Avaliação laboratorial da deficiência de ferro em doadoras de sangue . *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2007; 34 (5): 330-1.
42. Cable RG, Steele WR, Melmed RS, Johnson B, Mast AE, Carey PM, et al. The difference between fingerstick and venous hemoglobin and hematocrit varies by sex and iron stores. *Transfusion.* 2012;52(5):1031-40.
43. Goldman M, Uzicanin S, Osmond L, Scalia V, O'Brien SF. A large national study of ferritin testing in Canadian blood donors. *Transfusion.* 2017;57(3):564-70.
44. Cançado RD, Chiattonne CS, Alonso FF, Langhi Júnior DM, Alves ReC. Iron deficiency in blood donors. *Sao Paulo Med J.* 2001;119(4):132-445. Bryant BJ, Yau YY, Arceo SM, Hopkins JA, Leitman SF. Ascertainment of iron deficiency and depletion in blood donors through screening questions for pica and restless legs syndrome. *Transfusion.* 2013;53(8):1637-44.

46. Singh A, Chaudhary R, Sonker A, Pandey HC. Importance of donor history of restless leg syndrome and pica to assess iron deficiency. *Transfus Apher Sci.* 2016;54(2):259-61.
47. Spencer BR, Kleinman S, Wright DJ, Glynn SA, Rye DB, Kiss JE, et al. Restless legs syndrome, pica, and iron status in blood donors. *Transfusion.* 2013;53(8):1645-52.
48. Trost LB, Bergfeld WF, Calogeras E. The diagnosis and treatment of iron deficiency and its potential relationship to hair loss. *J Am Acad Dermatol.* 2006;54(5):824-44.
49. Sobolewski S, Lawrence AC, Bagshaw P. Human nails and body iron. *J Clin Pathol.* 1978;31(11):1068-72.
50. Spinelli MG, Souza JM, Souza SB, Sesoko EH. [Reliability and validity of palmar and conjunctival pallor for anemia detection purposes]. *Rev Saude Publica.* 2003;37(4):404-8.
51. Kalantri A, Karambelkar M, Joshi R, Kalantri S, Jajoo U. Accuracy and reliability of pallor for detecting anaemia: a hospital-based diagnostic accuracy study. *PLoS One.* 2010;5(1):e8545.

8. ANEXOS

8.1 Anexo 1. Questionário para coleta de dados

QUESTIONÁRIO

Dados demográficos

Nome do paciente: _____

Idade: _____ Sexo: _____

Data de nascimento: ___/___/___

Peso: _____ Estatura: _____

Estado civil: _____

Naturalidade: _____

Município de residência: _____

Escolaridade: _____

Ocupação: _____

Dados sobre fatores de risco para deficiência de ferro

1- Características do sangramento menstrual.

1.1- Quantos dias duram a sua menstruação? _____

1.2- Você perde sangue em pedaços ou coágulo? Sim Não

1.3- De quantos em quantos dias ocorre a sua menstruação? _____

2- História obstétrica

2.1- Já engravidou? Sim Não

2.2- Quantas vezes? _____

2.3- Quantos partos? _____

2.4- Número de filhos vivos? _____

3- Sintomas dispépticos.

3.1- Você tem história de dor ou sensação de queimação no estômago?

Sim Não

3.2- Você tem história de vômitos com sangue? Sim Não

3.3- Você tem história de sangramento nas fezes? Sim Não

4- História de doação de sangue

4.1- Já doou sangue? Sim Não

4.1- Quantas vezes? 1ª vez Mais de uma vez _____

Avaliação física padronizada

1- Palidez da mucosa conjuntival: Presente Ausente

2-Unha fraca : Presente Ausente Não avaliável

8.2 Anexo 2. Termo de consentimento livre e esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TCLE elaborado conforme descrito da Resolução 466/12 nos itens IV.3, IV.4 e IV.5.

Título do projeto: Acurácia diagnóstica de um painel de sinais e sintomas clínicos para a detecção da deficiência de ferro em doadoras de sangue.

Prof. °.Dr. Nelson Fraiji/ Prof. °. Dr. Erich Vinicius de Paula/ Jamesly Joseph

Número do CAAE: 82706418.4.0000.0009

Você está sendo convidado (a) participar como voluntário (a) dessa pesquisa sobre a deficiência de ferro em doadora de sangue. Este documento, chamado Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, tem por objetivo garantir seus direitos como participante e é elaborado em duas vias, uma que deverá ficar com você e outra com o pesquisador. Por favor, leia com atenção e calma, aproveitando para esclarecer suas dúvidas. Se houver perguntas antes ou mesmo depois de assiná-lo, você poderá esclarecê-las com o pesquisador. Se você não quiser participar ou se quiser retirar sua autorização a qualquer momento, não haverá nenhum tipo de penalização ou prejuízo.

Justificativa e objetivos da pesquisa

A deficiência de ferro é uma condição muito comum, sendo a principal causa de anemia no mundo. Embora o diagnóstico desta deficiência seja simples quando ela causa anemia, ele se torna mais complicado nas fases iniciais da deficiência, em que ainda não há anemia. Doadores regulares de sangue apresentam maior risco de desenvolvimento de deficiência de ferro, devido à perda do ferro dos glóbulos vermelhos doados. Esta situação é ainda mais complexa em mulheres, que apresentam uma maior necessidade diária de ferro devido às perdas menstruais. Embora a triagem padrão para doação de sangue permita o diagnóstico da anemia, ela não é capaz de detectar uma deficiência de ferro em sua fase inicial. Por isso, novos métodos para detecção desta deficiência são muito importantes. O objetivo desta

pesquisa é justamente avaliar se o exame físico e a entrevista com o doador são capazes de identificar estes estágios iniciais da deficiência de ferro.

Desconfortos e riscos

Os riscos de participação nesta pesquisa são baixos e incluem um possível stress emocional relacionado a aplicação do questionário. Os exames laboratoriais serão realizados em amostras obtidas após a doação de sangue, não há riscos relacionados a punção venosa. Além disso, seu nome nunca será divulgado antes ou depois do projeto.

Benefícios

Após sua participação nesta pesquisa, se você tiver deficiência de ferro, você será contatado para seguimento e tratamento, e os resultados obtidos neste estudo podem levar uma melhoria na qualidade de triagem padrão para doação.

Acompanhamento e assistência:

Após sua participação nesta pesquisa, se você tiver deficiência de ferro, você será contatado para seguimento e tratamento.

Ressarcimento:

Não haverá ressarcimento de despesas de transporte, alimentação, diárias, já que o estudo será feito durante uma consulta normal ao HEMOAM. Caso sua vinda ocorra exclusivamente para participação da pesquisa, os pesquisadores garantirão transporte público, e ressarcirão seus custos com alimentação.

Contato

Em caso de dúvidas sobre o estudo, você poderá entrar em contato com os pesquisadores deste projeto no HEMOAM: Av.Constantino Nery, 4397, Bairro Chapada Manaus/AM. O contato pode ser feito ainda pelo telefone (55) 996011500 ou pelo e-mail nelfraiji@gmail.com

Consentimento livre e esclarecido:

Após ter sido esclarecido sobre a natureza da pesquisa, seus objetivos, métodos, benefícios, riscos e o incômodo que esta possa causar, aceito participar:

Paciente

Eu, _____, data de nascimento: _____, documento de identidade: _____ concordo em participar do presente estudo, após estar absolutamente esclarecido (a) dos propósitos do mesmo.

Responsável legal (quando paciente tiver menos que 18 anos)

Eu, _____, data de nascimento: _____, documento de identidade: _____ concordo em participar do presente estudo, após estar absolutamente esclarecido (a) dos propósitos do mesmo.

Outras informações:

1. O voluntário estará livre para desistir do estudo a qualquer tempo, mesmo que inicialmente tenha concordado em fazê-lo.
2. Uma via deste termo de consentimento ficará com você;
3. O voluntário poderá tirar todas as dúvidas que tiver, ou que aparecerem durante o estudo, sobre o mesmo, havendo o compromisso do pesquisador em respondê-las.
4. Todas as informações obtidas pelo estudo terão um caráter sigiloso e confidencial e serão usadas apenas com a finalidade de divulgação e publicação científica, e sua identidade não será revelada.
5. A sua discordância em participar do estudo não lhe acarretará nenhum prejuízo em qualquer outro tratamento ou procedimento que possa necessitar futuramente em qualquer serviço de nosso hospital.

Assinatura do Voluntário

ou nome e assinatura de seu responsável legal

*Obs.: todas as páginas deverão ser rubricadas

Responsabilidade do Pesquisador:

Asseguro ter cumprido as exigências da resolução 466/2012 CNS/MS e complementares na elaboração do protocolo e na obtenção deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Asseguro, também, ter explicado e fornecido uma cópia deste documento ao participante. Informo que o estudo foi aprovado pelo CEP perante o qual o projeto foi apresentado e pela CONEP, quando pertinente. Comprometo-me a utilizar o material e os dados obtidos nesta pesquisa exclusivamente para as finalidades previstas neste documento ou conforme o consentimento dado pelo participante.

Data e assinatura do pesquisador responsável pela explicação deste termo de consentimento

Manaus, ____/____/____

Jamesly Joseph
Pesquisador responsável
Fone: (55)92981421694

Dr. Nelson Fraiji
Orientador
Fone: 996011500