



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

Facultad de
MEDICINA

**FRECUENCIA DE POSITIVOS A DENGUE Y FACTORES ASOCIADOS EN
DONANTES DE SANGRE DEL HOSPITAL BELÉN DE TRUJILLO
DURANTE JULIO A DICIEMBRE DEL 2022**

**FREQUENCY OF DENGUE POSITIVES AND ASSOCIATED FACTORS IN
BLOOD DONORS AT BELÉN DE TRUJILLO HOSPITAL DURING JULY
TO DECEMBER 2022**

**TRABAJO ACADEMICO PARA OPTAR POR EL TITULO DE SEGUNDA
ESPECIALIDAD PROFESIONAL EN HEMOTERAPIA Y BANCO DE
SANGRE**

AUTOR:

Yang Pierre Wilson Espejo Valdez

ASESOR:

Lupe Ysabel Vidal Valenzuela

LIMA-PERU

2022

ASESORES DE TRABAJO ACADÉMICO

ASESORA

Dra. Lupe Ysabel Vidal Valenzuela

Departamento Académico de la Universidad Peruana Cayetano Heredia

ORCID: 0000-0002-6624-314X

DEDICATORIA

A Dios, nuestro Señor, por bendecirme para llegar hasta donde he llegado, porque hiciste realidad este sueño anhelado. A mis queridos padres: Edita y Joni; por sus consejos, su apoyo incondicional y su paciencia en mi formación personal y profesional. A mis hermanos: Frank y Yeyson; que más que hermanos, son mis verdaderos amigos. A mi esposa Sandra; por sus palabras y confianza, por su amor y por brindarme el tiempo necesario para realizarme profesionalmente. A mis hijos: Claudia, Rodrigo y Gabriel; por su afecto y su cariño son los detonantes de mi felicidad, de mi esfuerzo y mi motivación más grande para concluir con éxito este proyecto de tesis.

AGRADECIMIENTO

Se agradece a quienes contribuyeron para el desarrollo de este trabajo monográfico. Expreso mi sincero agradecimiento a mi asesor, quien con su aporte han hecho posible la realización del presente trabajo de investigación. Un agradecimiento especial a todos mis compañeros y amigos con los cuales compartimos gratos momentos de estudio y satisfacciones durante nuestras actividades estudiantiles.

FUENTE DE FINANCIAMIENTO

El presente estudio será financiado con recursos propios del investigador

TABLA DE CONTENIDOS

	Pág.
1. RESUMEN	
2. INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIÓN.....	1
3. OBJETIVOS	6
3.1. Objetivo principal	6
3.2. Objetivos específicos	6
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	7
4.1 Diseño de estudio	7
4.2. Población y lugar de estudio	7
4.2.1. Criterios de inclusión	8
4.2.2 Criterios de exclusión.....	8
4.3. Muestra y muestreo.....	8
4.4. Operacionalización de variables	9
4.5. Procedimientos y técnicas	11
4.6. Aspectos éticos	12
4.7. Análisis de datos	13
5. PRESUPUESTO	14
6. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.....	15
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	16
ANEXOS	22

1.RESUMEN

Antecedentes: El Programa Nacional de Hemoterapia y Bancos de Sangre brinda directrices para el tamizaje de agentes infecciosos potencialmente transmisibles de hemoderivados a receptores. Por tanto, el tamizaje de agentes infecciosos en los Bancos de Sangre es de vital importancia. El tamizaje del virus Dengue no es una práctica frecuente, por lo cual, su tamizaje es de vital importancia en lugares donde el virus ha sido previamente detectado. **Objetivo:** Determinar la frecuencia de donantes de sangre positivos a dengue y describir los factores asociados a la positividad en el Hospital Belén de Trujillo durante julio a diciembre del 2022. **Métodos:** Estudio transversal analítico. El RNA viral del dengue será detectado mediante técnicas moleculares. Se explorará factores asociados a la positividad utilizando datos recolectados de forma estándar y rutinaria por el Banco de Sangre del Hospital de Belén de Trujillo. Posteriormente, el análisis de datos se fundamentará en la descripción de las variables y exploración de asociaciones mediante pruebas de hipótesis.

Palabras clave: Banco de sangre, Dengue, donantes.

ABSTRACT

Background: The National Program of Hemotherapy and Blood Banks provides guidelines for the screening of potentially transmissible infectious agents from blood products to recipients. Therefore, screening for infectious agents in blood banks is of vital importance. Screening for Dengue virus is not a frequent practice, therefore its screening is of vital importance in places where the virus has been previously detected.

Objective: To determine the frequency of dengue-positive blood donors and to describe the factors associated with positivity at the Hospital Belén de Trujillo from July to December 2022. **Methods:** Analytical cross-sectional study. Dengue viral RNA will be detected using molecular techniques. Factors associated with positivity will be explored using data collected in a standard and routine way by the Blood Bank of the Belén Hospital in Trujillo. Subsequently, the data analysis will be based on the description of the variables and exploration of associations through hypothesis tests.

Keywords: Blood Bank, Dengue, Donors.

2.INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha reportado un incremento significativo de la incidencia de la enfermedad del dengue de forma global, estimándose en cerca de 400 millones de infecciones anuales, habiendo aproximadamente 100 millones casos sintomáticos (1,2). La infección por dengue es predominante en áreas urbanas, y zonas tropicales o subtropicales, así como en zonas donde el hábitat silvestre es interrumpido por movilización humana (1,2). Múltiples investigaciones científicas reportaron la presencia de DENV en muestras de donantes de sangre, encontrándose tasas de viremia que alcanzaron el 0.4% durante brotes de dengue (3,4). Dado este escenario, la probabilidad de obtener sangre segura y libre del virus dengue (DENV) por los Bancos de Sangre disminuye de forma considerable en países endémicos como Perú.

En la epidemia del virus del dengue (DENV) que se produjo en Australia durante el 2008-2009, el riesgo de una donación de sangre con DENV se estimó en 1 en 7146 (5). En áreas endémicas de dengue, el riesgo incluso puede ser mayor, como se demostró durante el brote del 2005 en Singapur, en donde el riesgo de una donación de sangre con DENV fue de 1 en 1667 (6). En Perú, la reemergencia del DENV fue detectada en la ciudad de Iquitos, para el año 2000, y de forma histórica, los cuatro serotipos del DENV han circulado de forma endémica e intermitente en múltiples regiones del Perú (6). Por tanto, el estudio de DENV en Perú, dada su condición endémica, es de vital importancia particularmente en bancos de sangre (6, 8, 9).

Dado que la infección por DENV causa principalmente infecciones asintomáticas, los estudios de prevalencia realizados en regiones endémicas han encontrado tasas de infección asintomática entre los donantes de sangre que oscilan entre el 0.1% y el 0.5% (6, 10.) Asimismo, dado que la viremia es frecuentemente asintomática y generalmente dura entre 2 a 7 días en sangre, los hemoderivados podrían importarse incluso desde áreas epidémicas o endémicas hacia lugares donde no existe circulación del DENV (6, 10).

Desde el punto de vista diagnóstico enfocado en la prevención y en la obtención de sangre segura, múltiples herramientas moleculares han sido desarrolladas para detectar incluso pequeñas cantidades de RNA viral en muestras de donantes de sangre. En China (11), recientemente se desarrolló un método de confirmación de laboratorio rápido y preciso para detectar, cuantificar y diferenciar simultáneamente los serotipos 1, 2, 3 y 4 del DENV, siendo incluso capaz de detectar desde 5 copias de RNA/reacción, con sensibilidad superior al 89%, y especificidad del 100%. Del mismo modo, recientemente se describió la validación de una técnica de detección molecular múltiple para DENV capaz de detectar y diferenciar los cuatro serotipos sin reacciones cruzadas con otros flavivirus, con sensibilidad del 95% y una especificidad del 100% (12). Por otro lado, las técnicas isotérmicas han sido recientemente descritas como opciones más accesibles dado que no requieren de equipos sofisticados. El PCR isotérmico para la detección del DENV ha mostrado una concordancia perfecta con PCR convencionales, por lo cual podría ser una opción útil en los Bancos de Sangre (13). Asimismo, otros investigadores han descrito que el PCR isotérmico posee un elevado rendimiento,

sensibilidad y especificidad para la detección y tipificación del DENV (14). No obstante, a pesar de los múltiples estudios de caracterización y uso de pruebas moleculares, su uso en los bancos de sangre sigue siendo limitado de forma global posiblemente por una percepción errada sobre un posible bajo riesgo de transmisión de DENV del donante al receptor.

Recientemente, en Brasil, se recolectaron muestras de donantes y receptores para tamizar el DENV mediante técnicas moleculares (15). De 39134 donantes de sangre reclutados, se detectó DENV en aproximadamente el 1% de donantes, asimismo, los investigadores reportaron que un análisis retrospectivo evidenció que un total de 42 unidades positivas para DENV fueron transfundidas a 35 receptores, de los cuales solo 16 fueron susceptibles al serotipo transfundido. La transfusión pasiva de DENV a receptores pueda causar enfermedad, tal como fue reportado por Matos y colaboradores, en donde 6 de 42 receptores puertorriqueños que recibieron unidades positivas para DENV desarrollaron fiebre en las 2 semanas posteriores a la transfusión (16).

A nivel global, existe amplia evidencia que sugiere que, la detección de DENV en sangre o hemoderivados es un evento infrecuente pero real, y que su impacto es variable dado que depende del número de receptores, inmunidad previa para DENV en el receptor, estado de susceptibilidad, entre otros (17-19). Del mismo modo, existe evidencia disponible relacionada a la persistencia y sobrevivencia de partículas infecciosas de DENV en hemoderivados, situación que genera la necesidad de mejorar e identificar

de mejor forma aquellos subgrupos poblacionales con riesgo incrementado para ser positivos a DENV (20, 21).

A nivel local, la incidencia de dengue aparentemente ha disminuido en los últimos dos años, esto dado por la falta de vigilancia y dedicación de los recursos casi exclusivamente a la lucha contra la pandemia (22-24). No obstante, dengue no ha dejado de ser un problema dada su alta tasa de endemidad a múltiples localidades peruanas, siendo un riesgo inminente la exportación de casos desde zonas endémicas a zonas en donde el vector representa una amenaza, como por ejemplo lo es al norte de Lima y en ciudades del norte del país incluyendo Piura, Trujillo, etcétera (25,26). Por otro lado, existe limitada evidencia local sobre factores de riesgo asociados a la detección de RNA viral del Dengue en bancos de sangre dado que este no es un marcador frecuentemente tamizado a nivel nacional. No obstante, diferentes son los factores de riesgo recomendados para la evaluación del riesgo según PRONAHEBAS que no son específicos de dengue, pero que sí podrían ser explorados para dicho fin (27). Los factores recomendados para identificar riesgo según PRONAHEBAS están orientados a la ocupación, nivel de instrucción, lugar de procedencia, y residencia en zona endémica. Otros factores, como aquellos de comportamiento sexual de riesgo, cirugías, tatuajes y pertenencia a grupos de riesgo no son propios de Dengue.

La justificación de este trabajo se basa que en el Perú el DENV se ha convertido en una enfermedad endémica en la zona norte del país y que también viene afectando algunas regiones como Lima e Ica (7-9). En la actualidad, la transmisión de agentes infecciosos a los receptores ha disminuido de forma significativa dado que existe una

normativa que regula el proceder y tamizaje a nivel nacional (27). A pesar de existir un lineamiento nacional, el tamizaje de DENV no es obligatorio incluso en zonas endémicas del país. Asimismo, no existe un estudio previo que haya caracterizado de forma profunda aquellos factores relacionados a positividad para DENV entre donantes de sangre, por lo cual se vuelve necesario evaluar la posible relación de aquellos factores frecuentemente evaluados en las entrevistas y la positividad a una prueba molecular para Dengue. Finalmente, este proyecto se justifica en la necesidad de crear una línea basal de información que a futuro permita tomar decisiones basadas en evidencia y proponer mejores algoritmos para identificar grupos de riesgo con mayor probabilidad de ser positivos a la detección molecular del dengue. Dada la necesidad de información para tomar medidas basadas en información, el estudio propuesto aquí se hace necesario para responder la siguiente pregunta de investigación; *¿Cuál es la frecuencia de positivos a dengue y cuáles son los factores asociados en donantes de sangre en el Hospital Belén de Trujillo durante julio a diciembre del 2022?*

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo principal

- Determinar la frecuencia de positivos a dengue y describir los factores asociados en donantes de sangre en el Hospital Belén de Trujillo durante julio a diciembre del 2022.

3.2. Objetivos específicos

- Determinar la frecuencia de donantes de sangre positivos a dengue de acuerdo al sexo, edad, nivel de instrucción, tipo de donante, ocupación, historial de viajes en los últimos 15 días, y presencia del vector de los donantes de sangre.
- Describir la dinámica de positividad a dengue de acuerdo al mes de tamizaje, y de forma estratificada según características de los donantes de sangre.
- Explorar la asociación entre la positividad a dengue de acuerdo al sexo, edad, nivel de instrucción, tipo de donante, ocupación, historial de viajes en los últimos 15 días, y presencia del vector.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. Diseño de estudio

Estudio descriptivo, transversal, analítico.

4.2. Población y lugar de estudio

El estudio será realizado en el Hospital Belén de Trujillo, el cual pertenece al Ministerio de Salud y tiene un nivel III-1. El centro de salud está ubicado en la misma ciudad de Trujillo, y dada su ubicación geográfica atiende principalmente a población Trujillana. Además, es considerado un referente de la salud a nivel local dada su alta capacidad de atención y amplia cartera de servicios ambulatorios y especializados.

El centro de Hemoterapia y Banco de sangre previo a la pandemia iniciada en el 2020, atendía un promedio de 1000 donantes de sangre de forma mensual. Dada la emergencia sanitaria nacional, las atenciones fueron afectadas y los números muy fluctuantes. No obstante, se espera que en la medida que las medidas sanitarias sigan flexibilizándose, las atenciones para los donantes recuperen el promedio histórico.

La unidad de análisis del estudio está conformada por la diada ficha del donante y muestra de sangre/suero/plasma, dado que, del donante se extraerá la información relacionada para determinar los factores asociados a la positividad o no en la detección del RNA viral del virus Dengue. Los criterios de inclusión y exclusión están fundamentados en las normas internas del centro de Hemoterapia y Banco de sangre

del Hospital de Belén de Trujillo, así como en aquellas descritas en el Programa Nacional de Hemoterapia y Bancos de Sangre (PRONAHEBAS) (27).

4.2.1. Criterios de inclusión

- Fichas de datos/muestras de donantes de sangre con edad igual o mayor a 18 años, y menores de 65 años de edad.
- Fichas de datos/muestras de donantes de sangre que fueron aceptados y catalogados como aptos de acuerdo a las directrices brindadas por el PRONAHEBAS (27).

4.2.2. Criterios de exclusión

- Fichas de datos con datos incompletos o con información mal completada, o muestras de mala calidad que por su condición no pueda ser procesada para la detección del RNA viral de Dengue.
- El no cumplimiento de al menos una directriz relacionada a calidad o condición del donante o muestra de acuerdo a lo establecido por PRONAHEBAS será motivo de exclusión (27).

4.3. Muestra y muestreo

El estudio propone evaluar la positividad al RNA de Dengue en un periodo de 6 meses. De forma global, y bajo un escenario no pandémico se espera un promedio de 1000 donantes mensuales. En tal sentido, la población estimada para el periodo de

estudio es de 6000 donantes. Un estudio publicado recientemente sugirió que la positividad para RNA o antígeno de Dengue es del 1.2% en donantes de sangre, mientras que la serología positiva es superior al 25% (28). Dado que la seropositividad en los bancos de sangre es motivo de alarma y no necesariamente de riesgo, este estudio se enfoca en detectar RNA viral el cual es un mejor indicador de riesgo real dado que el virus puede ser pasivamente transfundido al receptor.

Dado que la frecuencia es de 1.2%, considerando como tamaño de la población de 6000, un intervalo de confianza al 95%, y un margen de error de 0.6, el tamaño de muestra final sería de 1045 muestras (Anexo 1). El margen de error elegido concuerda con lo previamente descrito por Arya y colaboradores (29), por lo cual, el estimado final es confiable. Al sumar un 10% por posibles pérdidas, el total de muestras a procesar sería de 1150 muestras. La fórmula usada fue la de una proporción puntual considerando el tamaño poblacional en la web: <https://select-statistics.co.uk/calculators/sample-size-calculator-population-proportion/>

4.4. Operacionalización de variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador	Tipo de variable y escala de medición
Edad	Años de vida de una persona según tiempo cronológico	Edad calculada entre la fecha de donación y fecha de nacimiento	Años	Numérica, continua de razón

		según registro en la donación		
Sexo	Característica biológica y genética que divide a los seres humanos en hombre o mujer	Característica del donante como masculino o femenino	Masculino Femenino	Categórica, dicotómica nominal
Nivel de instrucción	Grado o nivel académico, o años de estudios realizados	Nivel de instrucción obtenido por autoreporte	Analfabeto, Primaria, Secundaria, Superior	Categórica, politómica nominal
Tipo de donante	Donación hecha de forma voluntaria, reposición o remunerada	Forma de donación auto-reportada o inferida por el evaluador	Voluntaria, reposición, remunerada	Categórica, politómica nominal
Ocupación	Actividad de origen manual o intelectual que percibe una remuneración	Característica sobre la actividad realizada por el donante auto-reportada	Estudiante, empleado, obrero, desempleado o	Categórica, politómica nominal
Viaje a zona endémica	Vivir o haber viajado a un lugar o zona en donde dengue es endémico en los últimos 15 días	Autoreporte movilización a zona endémica del dengue en los últimos 15 días	Sí, no	Categórica, dicotómica nominal
Presencia de vector del dengue en domicilio	Aedes presente en diferentes densidades poblacionales en hogar o alrededor	Autoreporte de la presencia de Aedes identificado como un “mosquito con patitas blancas”	Sí, no	Categórica, dicotómica nominal
Presencia del RNA viral del Dengue	Detección del material genético viral del virus del Dengue mediante una técnica molecular	Resultado del laboratorio luego de proceder con la detección del RNA viral del virus Dengue	Positivo, negativo	Categórica, dicotómica nominal

4.5. Procedimientos y técnicas

Dado que en este estudio no se propone realizar procedimientos adicionales relacionados a la captación, entrevista y aceptación del donante, todos ellos quedan a cargo del Banco de Sangre. No obstante, los procedimientos propuestos en este estudio estarán ligados al tamizaje de agentes infecciosas, los cuales se amparan en lo descrito por el PRONAHEBAS (27).

De forma referencial, se espera encontrar una frecuencia de positividad menor al 2% (28), por ende, la estrategia laboratorial se fundamentará en el uso de pooles de muestras la cual ha demostrado ser eficiente y bastante útil en el tamizaje de RNA viral (30, 31). En ese sentido, se propone realizar un pool de 10 muestras de suero/plasma con un volumen final de 500 μ L. De cada muestra se procederá a tomar 50 μ L. Posteriormente se extraerá el RNA viral utilizando el kit de QIAamp Viral RNA siguiendo las instrucciones del fabricante. Posteriormente, se realizará el RT-PCR que detecta el RNA del virus Dengue, el cual fue descrito por el Instituto Nacional de Salud del Perú (32). De tener un pool positivo, se procederá a extraer el RNA viral de cada muestra individual con el propósito de realizar la detección individualizada. De tener un pool negativo, todas las muestras que conformaron el pool serán reportadas como negativas.

La información necesaria para responder los objetivos del estudio será extraída de los registros del Banco de Sangre, previa autorización, y de forma directa a un Excel por lo cual no se diseñó una ficha de recolección de datos.

4.6. Aspectos éticos

Este protocolo se registrará en el Sistema Descentralizado de Información y Seguimiento a la Investigación (SIDISI) – Dirección Universitaria de Investigación, Ciencia y Tecnología (DUICT), y será evaluado por el Comité Institucional de Ética de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. Luego, se procederá con el registro y aprobación del proyecto en el Hospital Belén de Trujillo con el propósito de obtener las aprobaciones y permisos necesarios para iniciar el estudio.

Durante la implementación del estudio se respetarán los principios éticos delineados en la declaración de Helsinki, y se seguirán estrictamente las recomendaciones realizadas por las instancias éticas.

Dado que este estudio está enmarcado en evaluaciones que el Banco de sangre puede realizar de acuerdo a sus requerimientos y necesidades, y dado que PRONAHEBAS (27) sugiere el tamizaje de agentes patógenos transmisibles por sangre y derivados, no se aplicará un consentimiento informado de forma independiente. Por el contrario, este estudio no propone aplicar consentimientos independientes, pero sí integrara el tamizaje de dengue de forma temporal y durante la duración del estudio. Los donantes tendrán acceso a los resultados rutinarios, y a los emitidos por el estudio. Asimismo, el Hospital brindará consejería en caso se encuentre un caso de dengue.

4.7. Análisis de datos

La descripción de las variables como edad, sexo, nivel de instrucción, tipo de donante, ocupación, viaje reciente, presencia del vector y resultado de la detección del RNA viral se realizará por el uso de frecuencias relativas y absolutas. La edad será categorizada en terciles para una mejor descripción, así como se presentará una medida de tendencia central y dispersión. La exploración de factores asociados a positividad para el RNA viral se realizará usando la prueba exacta de Fisher, y la t de student para variables numéricas y categóricas dicotómicas. De no cumplir los supuestos estadísticos para usar la prueba de t de student, se utilizará una prueba no paramétrica. El análisis de datos será realizado en Stata v16 (StataCorp. 2019. Stata Statistical Software: Release 16. College Station, TX: StataCorp LLC.), y se utilizará un valor de p menor a 0.05 como significativo.

5. PRESUPUESTO

Este proyecto será autofinanciado por el investigador.

Material			
Concepto	Cantidad	Precio/Unidad	Costo final
Kits de extracción de RNA x 250	3	1500	4500
Kits de RT-PCR	6	1000	6000
Cajas de puntas con filtro de 10 uL	8	150	1200
Cajas de puntas con filtro de 200 uL	2	150	300
Cajas de puntas con filtro de 1000 uL	2	150	300
Placas de PCR y cobertores (caja)	1	250	250
Material de escritorio		300	300
Servicios			
Tipeo y registro de datos	2 h	80	160
Alquiler de equipo de RT-PCR	30 h	80	2400
Total: S/.			15410

6. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Actividades	Tiempo (meses)	Meses												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Presentación y registro del proyecto en FAMED de UPCH	1.5	X	X											
Presentación y registro del proyecto en el CIE de UPCH	1.5		X	X										
Presentación y registro del proyecto en el Hospital Belén de Trujillo	1.5			X	X									
Ejecución del estudio, procesamiento de muestras y recolección de datos	6					X	X	X	X	X	X			
Análisis de datos	2											X	X	
Redacción de informe final	1													X

7 . REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gwee XWS, Chua PEY, Pang J. Global dengue importation: a systematic review. *BMC Infect Dis.* 2021 Oct 19;21(1):1078.
2. Bhatt S, Gething PW, Brady OJ, Messina JP, Farlow AW, Moyes CL, Drake JM, Brownstein JS, Hoen AG, Sankoh O, Myers MF, George DB, Jaenisch T, Wint GR, Simmons CP, Scott TW, Farrar JJ, Hay SI. The global distribution and burden of dengue. *Nature.* 2013 Apr 25;496(7446):504-7.
3. Stramer SL, Linnen JM, Carrick JM, Foster GA, Krysztof DE, Zou S, Dodd RY, Tirado-Marrero LM, Hunsperger E, Santiago GA, Muñoz-Jordan JL, Tomashek KM. Dengue viremia in blood donors identified by RNA and detection of dengue transfusion transmission during the 2007 dengue outbreak in Puerto Rico. *Transfusion.* 2012 Aug;52(8):1657-66.
4. Levi JE, Nishiya A, Félix AC, Salles NA, Sampaio LR, Hangai F, Sabino EC, Mendrone A Jr. Real-time symptomatic case of transfusion-transmitted dengue. *Transfusion.* 2015 May;55(5):961-4.
5. Faddy HM, Seed CR, Fryk JJ, Hyland CA, Ritchie SA, Taylor CT, Van Der Merwe KL, Flower RL, McBride WJ. Implications of dengue outbreaks for blood supply, Australia. *Emerg Infect Dis.* 2013 May;19(5):787-9.
6. Wilder-Smith A, Chen LH, Massad E, Wilson ME. Threat of dengue to blood safety in dengue-endemic countries. *Emerg Infect Dis.* 2009 Jan;15(1):8-11.
7. Reiner RC Jr, Stoddard ST, Forshey BM, King AA, Ellis AM, Lloyd AL, Long KC, Rocha C, Vilcarrromero S, Astete H, Bazan I, Lenhart A, Vazquez-

- Prokopec GM, Paz-Soldan VA, McCall PJ, Kitron U, Elder JP, Halsey ES, Morrison AC, Kochel TJ, Scott TW. Time-varying, serotype-specific force of infection of dengue virus. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014 Jul 1;111(26):E2694-702. doi: 10.1073/pnas.1314933111.
8. Morrison AC, Minnick SL, Rocha C, Forshey BM, Stoddard ST, Getis A, Focks DA, Russell KL, Olson JG, Blair PJ, Watts DM, Sihuincha M, Scott TW, Kochel TJ. Epidemiology of dengue virus in Iquitos, Peru 1999 to 2005: interepidemic and epidemic patterns of transmission. *PLoS Negl Trop Dis*. 2010 May 4;4(5):e670.
 9. Forshey BM, Guevara C, Laguna-Torres VA, Cespedes M, Vargas J, Gianella A, Vallejo E, Madrid C, Aguayo N, Gotuzzo E, Suarez V, Morales AM, Beingolea L, Reyes N, Perez J, Negrete M, Rocha C, Morrison AC, Russell KL, Blair PJ, Olson JG, Kochel TJ; NMRCDFebriLe Surveillance Working Group. Arboviral etiologies of acute febrile illnesses in Western South America, 2000-2007. *PLoS Negl Trop Dis*. 2010 Aug 10;4(8):e787.
 10. Stramer SL, Hollinger FB, Katz LM, Kleinman S, Metzger PS, Gregory KR, Dodd RY. Emerging infectious disease agents and their potential threat to transfusion safety. *Transfusion*. 2009 Aug;49 Suppl 2:1S-29S.
 11. Chen H, Parimelalagan M, Lai YL, Lee KS, Koay ES, Hapuarachchi HC, Ng LC, Ho PS, Chu JJ. Development and Evaluation of a SYBR Green-Based Real-Time Multiplex RT-PCR Assay for Simultaneous Detection and Serotyping of Dengue and Chikungunya Viruses. *J Mol Diagn*. 2015 Nov;17(6):722-8.

12. Simmons M, Myers T, Guevara C, Jungkind D, Williams M, Houg HS. Development and Validation of a Quantitative, One-Step, Multiplex, Real-Time Reverse Transcriptase PCR Assay for Detection of Dengue and Chikungunya Viruses. *J Clin Microbiol.* 2016 Jul;54(7):1766-1773.
13. Tsai JJ, Liu WL, Lin PC, Huang BY, Tsai CY, Lee PA, Tsai YL, Chou PH, Chung S, Liu LT, Chen CH. A fully automated sample-to-answer PCR system for easy and sensitive detection of dengue virus in human serum and mosquitos. *PLoS One.* 2019 Jul 10;14(7):e0218139.
14. Go YY, Rajapakse RPVJ, Kularatne SAM, Lee PA, Ku KB, Nam S, Chou PH, Tsai YL, Liu YL, Chang HG, Wang HT, Balasuriya UBR. A Pan-Dengue Virus Reverse Transcription-Insulated Isothermal PCR Assay Intended for Point-of-Need Diagnosis of Dengue Virus Infection by Use of the POCKIT Nucleic Acid Analyzer. *J Clin Microbiol.* 2016 Jun;54(6):1528-1535.
15. Sabino EC, Loureiro P, Lopes ME, Capuani L, McClure C, Chowdhury D, Di-Lorenzo-Oliveira C, Oliveira LC, Linnen JM, Lee TH, Gonçalez T, Brambilla D, Kleinman S, Busch MP, Custer B; International Component of the NHLBI Recipient Epidemiology and Donor Evaluation Study-III. Transfusion-Transmitted Dengue and Associated Clinical Symptoms During the 2012 Epidemic in Brazil. *J Infect Dis.* 2016 Mar 1;213(5):694-702.
16. Matos D, Tomashek KM, Perez-Padilla J, Muñoz-Jordán J, Hunsperger E, Horiuchi K, Noyd D, Winton C, Foster G, Lanteri M, Linnen JM, Stramer SL. Probable and possible transfusion-transmitted dengue associated with NS1

antigen-negative but RNA confirmed-positive red blood cells. *Transfusion*. 2016 Jan;56(1):215-22.





17. Chen YY, Lu CT, Tsai MH, Yang CF, Shu PY, Wu CW, Chen JW, Hung CM, Wei ST, Hou SM, Chen PJ. Dengue virus RNA detection rates in blood donors correlates with local infection incidences during a dengue outbreak in Taiwan. *J Infect Dis*. 2022 Jan 31;jiac014
18. Faria NR, da Costa AC, Lourenço J, Loureiro P, Lopes ME, Ribeiro R, Alencar CS, Kraemer MUG, Villabona-Arenas CJ, Wu CH, Thézé J, Khan K, Brent SE, Romano C, Delwart E, Custer B, Busch MP, Pybus OG, Sabino EC; NHLBI Recipient Epidemiology and Donor Evaluation Study-III (REDS-III). Genomic and epidemiological characterisation of a dengue virus outbreak among blood donors in Brazil. *Sci Rep*. 2017 Nov 9;7(1):15216
19. Dos Santos Bezerra R, de Oliveira LS, Moretto EL, Amorim Ubiali EM, Silveira RM, da Silva WA Junior, Covas DT, Kashima S, Slavov SN. Viral metagenomics in blood donations with post-donation illness reports from Brazil. *Blood Transfus*. 2021 Mar;19(2):93-101
20. Sutherland MR, Simon AY, Serrano K, Schubert P, Acker JP, Pryzdial EL. Dengue virus persists and replicates during storage of platelet and red blood cell units. *Transfusion*. 2016 May;56(5):1129-37.
21. Simon AY, Sutherland MR, Pryzdial EL. Dengue virus binding and replication by platelets. *Blood*. 2015 Jul 16;126(3):378-85.

22. Plasencia-Dueñas R, Failoc-Rojas VE, Rodriguez-Morales AJ. Impact of the COVID-19 pandemic on the incidence of dengue fever in Peru. *J Med Virol.* 2022 Jan;94(1):393-398.
23. Espinoza MI. Conflicting diagnostic and prognostic framing of epidemics? Newspaper representations of dengue as a public health problem in Peru. *Soc Sci Med.* 2021 Nov;289:114398.
24. Benedum CM, Shea KM, Jenkins HE, Kim LY, Markuzon N. Weekly dengue forecasts in Iquitos, Peru; San Juan, Puerto Rico; and Singapore. *PLoS Negl Trop Dis.* 2020 Oct 16;14(10):e0008710.
25. Elson WH, Reiner RC, Siles C, Bazan I, Vilcarromero S, Riley-Powell AR, Kawiecki AB, Astete H, Hontz RD, Barker CM, Vazquez-Prokopec GM, Morrison AC, Scott TW, Elder JP, Rothman AL, Paz-Soldan VA. Heterogeneity of Dengue Illness in Community-Based Prospective Study, Iquitos, Peru. *Emerg Infect Dis.* 2020 Sep;26(9):2077-2086.
26. Barboza Meca J. Is there a relation between public investment and the prevention of metaxenic diseases in the North of Perú? *Medwave.* 2017 Jun 22;17(5):e6983.
27. Ministerio de Salud del Perú. Lineamientos de política del PRONAHEBAS. Disponible en: http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/1087_DGSP264.pdf
28. Li L, Li Y, Lu S, Dong J, Xu H, Zhang Q, Weng R, Yin Y, He R, Fang P, Shi H, Yu Y, Wu J, Liu Z, Hess JR. Epidemiological survey and screening strategy for dengue virus in blood donors from Yunnan Province. *BMC Infect Dis.* 2021 Jan 22;21(1):104

29. Arya R, Antonisamy B, Kumar S. Sample size estimation in prevalence studies. *Indian J Pediatr.* 2012 Nov;79(11):1482-8.
30. Sherlock M, Zetola NM, Klausner JD. Routine detection of acute HIV infection through RNA pooling: survey of current practice in the United States. *Sex Transm Dis.* 2007 May;34(5):314-6.
31. Stramer SL, Glynn SA, Kleinman SH, Strong DM, Caglioti S, Wright DJ, Dodd RY, Busch MP; National Heart, Lung, and Blood Institute Nucleic Acid Test Study Group. Detection of HIV-1 and HCV infections among antibody-negative blood donors by nucleic acid-amplification testing. *N Engl J Med.* 2004 Aug 19;351(8):760-8.
32. Yábar C, Carrillo C, Nolasco O, García M, Montoya Y. Diagnóstico temprano del Virus Dengue 1 usando RT-PCR y perspectivas para la caracterización molecular de Cepas Autóctonas. *Rev. Perú. Med. Exp. Salud Pública* [Internet]. 1999 [citado 2022 Feb 16]; 16(1-2): 31-34.

ANEXOS

Anexo 1. Cálculo de tamaño de muestra

What margin of error do you need? 5% is a common choice	<input type="text" value="0.6"/> %	
What confidence level do you need? Typical choices are 90%, 95%, or 99%	<input type="text" value="95"/> %	
How big is the population? If you don't know, use 100,000	<input type="text" value="6000"/>	
What do you believe the likely sample proportion to be? If you're not sure, leave this as 50%	<input type="text" value="1.2"/> %	
Your recommended sample size is	1045	