

Inquérito Serológico Nacional COVID-19

**Relatório de Apresentação dos Resultados Preliminares do
Primeiro Inquérito Serológico Nacional COVID-19**

Julho de 2020

Inquérito Serológico Nacional COVID-19

Relatório de Apresentação dos Resultados Preliminares do Primeiro Inquérito Serológico Nacional COVID-19

Equipa

Coordenação: Ana Paula Rodrigues

Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge: Irina Kislaya, Ana Cristina Garcia, Marta Barreto, Ana Rita Torres, Verónica Gómez, Ausenda Machado, Mafalda Sousa Uva, Baltazar Nunes, Carlos Dias, Raquel Guiomar, Rita Matos, Paulo Gonçalves, Rita de Sousa, João Santos, Carla Manita, Inês Costa, Sofia Soeiro, Nuno Verdasca, Carla Roque, Raquel Rocha, Fátima Martins, Jorge Machado.

Associação Nacional de Laboratórios Clínicos e Laboratórios Parceiros: Maria Amélia Frade, Direção da Associação Nacional de Laboratórios, Conselho Científico da Associação Nacional de Laboratórios e Grupo de Laboratórios Associados, Maria José Rego de Sousa, Rita Ribeiro, Manuel Carvalho, Sílvia Moreira, Carlos Cardoso, Rui Pinto, Laura Brum, Paula Farto, Marco Marques, Iolanda Rodrigues, Sofia Jorge, Paula Abreu, Sérgio Fernandes, Maria Beatriz Tomaz, Luísa Ponte, Jorge Queiroz, Edite Gomes, Matilde Vargues, Maria Edite Caliço.

Hospitais Parceiros: Patrícia Mação, Guiomar Oliveira, Paulo Ávila, Jacinta Dantas, Sofia Miranda, Cátia Silva, Julieta Fernandes, Paula Gama, Rita Pinto, Pedro Brázio, Ana Paula Marques, Judite Sachicumbi, José Alves, Eurico Gaspar, Fátima Vale, Sofia Reis, Paula Correia, Luísa Sancho, Ana Margalha Miranda, Maria da Graça Pires Cristina, Alexandra Dias, Cristiana Costa, Francisca Manoel, Isabel Vasconcelos Coelho, Eunice Cláudia Moreno Trindade, Elsa Santos, Maria João Virtuoso, Rita Pereira, Rute Neves, Maria Pereira, Teresa Luciano.

Parceiros Institucionais



Unidade de Saúde Local do Alto Minho



Centro Hospitalar de Trás-os-Montes e Alto Douro



Centro Hospitalar Universitário de São João



Hospital Sousa Martins - Guarda



Centro Hospitalar Tondela-Viseu



Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra - Hospital Pediátrico



Centro Hospitalar do Médio Tejo (Torres Novas, Tomar e Abrantes)



Hospital Professor Doutor Fernando Fonseca



Centro Hospitalar de Lisboa Central



Hospital do Espírito Santo de Évora



Unidade Local de Saúde do Litoral Alentejano



Unidade Local de Saúde do Baixo Alentejo



Centro Hospitalar Universitário do Algarve



Associação Nacional de Laboratórios Clínicos



Hospital Central do Funchal - Hospital Dr. Nélio Mendonça



Hospital de Santo Espírito da Ilha Terceira, Angra do Heroísmo (Terceira e Graciosa)



Hospital do Divino Espírito Santo de Ponta Delgada, São Miguel



Hospital da Horta (Faial, Pico, São Jorge e Flores)

Agradecimentos

Paula Braz, Joana Santos, Arminda Rosa, Inês Batista, Rita Roquette, Teresa Folha, Sónia Namorado, Ana Paula Faria, Helena Correia, Neuza Gomes, Sílvia Viegas, Marina Cordeiro, Conceição Moreira, Assunção António, Sandra Assunção, Lúcia Reis, Paula Cristóvão, Francisco Tellechea, Rute Nunes, Paulo Jesus, Mário Brás, Idrissa Silá, Fernando Santos, Luís Freitas, Célia Tavares, Adelaide Abreu, Etelvina Silva, Maria Conceição Cardoso, Maria Cristina Ferreira Gonçalves, Ana Teresa Almeida, Augusta Correia, Maria Lourdes Bento, Maria Cristina Matos, Joana Lebre Branco Vieira de Melo, Maria Miguel Carlos, Graça Maria de Novais Sanhudo da Cunha Coutinho Teles de Abreu, Isabel Cristina Alves Pereira, Sofia Bravo, Catarina Figueiredo, Ana Lúcia Melo, Hélder Ornelas, Filomena Caldeira, André Assunção, David Rabiço da Costa, Débora Valente Silva, Inês Pais Cunha, Laura Leite de Almeida, Sara Geraldes Paulino, Luísa Silveira, Lénio Couto, Carolina Teixeira, Érica Catarina Ferreira Mendonça, Yaqueline Manuela Feligueira Freitas, Miriam Nance Gonçalves Sousa, Cheila Melissa da Silva Plácido, Alexandra Sofia Gomes Andrade, Beatriz Maria Brazão Câmara, Catarina Luísa Jardim Andrade, Carolina Isabel Ferreira Gonçalves, Clara Sofia Sousa Melim, Cláudia Vanessa Abreu Rocha, Sara Luísa Castro de Brito Figueiroa e Silva, Tatiana Vanessa dos Santos Luís, Inês Carvalho Gonçalves, Teresa Damião, Sara Sousa, João Furtado, Bernardete Taveira, Catarina Sá, Mara Pereira, Marina Furtado, Maria Graça Machado, Raquel Pimentel, Berta Carvalho, Sofia Jardim, Rita Reis, Isilda Cordeiro, Guida Dias, Margarida Carvalho, Maria João Pais, Cristina Gomes, Sónia Ferreira, Helena Dias, Lina Aveiro, Alexandra Rigueira, Helena Reis, Pedro Moreira, Matilde Correia, Fátima Luz, Fátima Martins, Andreia Matos, Aline Raquel Antunes.

A todos os participantes no Inquérito Serológico Nacional COVID-19.

Lista de Siglas e Abreviaturas

Ac Totais: Anticorpos Totais

ANLC: Associação Nacional dos Laboratórios Clínicos

ARS: Administrações Regionais de Saúde

β-CoV: beta-Coronavírus

COVID-19: Doença pelo vírus SARS-CoV-2

DGS: Direção Geral da Saúde

ECA2: Enzima de Conversão da Angiotensina 2

ECDC: Centro Europeu de Prevenção e Controlo de Doenças

ELISA: Ensaio de Imunoabsorção Enzimática

IC 95: Intervalo de Confiança a 95 %

Ig: Imunoglobulina

IgA: Imunoglobulina A

IgM: Imunoglobulina M

IgG: Imunoglobulina G

INSA: Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP

ISN: Inquérito Serológico Nacional

MERS-CoV: Coronavírus da Síndrome Respiratória do Médio Oriente

NUTS: Nomenclatura das Unidades Territoriais para Fins Estatísticos

OMS: Organização Mundial de Saúde

PHEIC: Emergência de Saúde Pública de Âmbito Internacional

SARS-CoV-1: Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave 1

SARS-CoV-2: Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave 2

SINAVE: Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica

SNS: Serviço Nacional de Saúde

RA: Região Autónoma

RNA: Ácido Ribonucleico

RS: Região de Saúde

RT-PCR: Reverse Transcriptase – Polimerase Chain Reaction

Resumo Executivo

A doença causada pelo vírus SARS-CoV-2 (*Coronavirus Disease 2019* ou *COVID-19*) foi declarada como Pandemia no dia 11 de março de 2020. Os estudos sero-epidemiológicos permitem estimar incidências cumulativas e taxas de letalidade mais precisas quando comparadas com as obtidas a partir dos resultados do teste de deteção do RNA viral (RT-PCR), identificar fatores de risco para a infecção, avaliar a sua progressão na população ao longo do tempo, e estimar o tempo de permanência dos anticorpos em circulação no organismo, colmatando lacunas de informação essenciais para o planeamento das medidas mais efetivas de controlo da pandemia e avaliação da sua implementação.

O primeiro Inquérito Serológico Nacional COVID-19 (ISN COVID-19) teve por objetivos primários: 1) caracterizar a distribuição dos anticorpos específicos contra SARS-CoV-2 e determinar a extensão da infecção por SARS-CoV-2 na população residente em Portugal; 2) determinar e comparar a seroprevalência de anticorpos específicos contra SARS-CoV-2 em grupos etários específicos e por Região de Saúde; e 3) determinar a fração de infecções assintomáticas por SARS-CoV-2 na população residente em Portugal.

O ISN COVID-19 é um estudo epidemiológico observacional, transversal, de âmbito nacional. Foi analisada uma amostra não-probabilística (amostragem por quotas) de 2.301 pessoas residentes em Portugal, com idade superior ou igual a 1 ano, estratificada por grupo etário. Foram recolhidos dados demográfico-sociais, epidemiológicos e clínicos, através da aplicação de um questionário e efetuada a recolha de uma amostra de sangue a cada um dos participantes, em 96 pontos de colheita de 7 Laboratórios de Patologia Clínica da Associação Nacional de Laboratórios Clínicos, e em 18 hospitais do Serviço Nacional de Saúde, entre 21 de maio e 8 de julho de 2020.

De acordo com a definição de caso selecionada neste estudo (presença de IgM ou IgG específicas contra SARS-CoV-2), ao nível nacional foi estimada uma seroprevalência de 2,9 % (IC 95: 2,0 - 4,2 %), valor superior à incidência acumulada da infecção reportada, no final do período de estudo, pelo Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica (SINAVE) (0,44 %), e à proporção de participantes que, neste estudo, referiu infecção prévia por SARS-CoV-2 (0,8 %).

No que respeita à distribuição por sexo, a seroprevalência estimada foi mais elevada nos indivíduos do sexo masculino (4,1 %; IC 95: 2,6 - 6,6 %) comparativamente com os do sexo feminino (1,8%; IC 95: 0,9 - 3,4 %). Observaram-se valores semelhantes de seroprevalência nos

grupos etários em estudo, variando entre 2,2 % (IC 95: 0,8 - 5,5 %) no grupo etário dos 10 aos 19 anos e 3,2 % (IC95: 1,5 - 6,7 %) no grupo etário dos 40 aos 59 anos. Ao nível regional, a seroprevalência variou entre 1,2 % (IC 95: 0,3 - 4,0 %) no Alentejo e 3,5 % (IC 95: 1,9 - 6,3 %) em Lisboa e Vale do Tejo, embora estas diferenças não tenham significância estatística. Por nível de escolaridade, observaram-se diferenças estatisticamente significativas entre os valores de seroprevalência estimados, que se revelou mais elevada nos indivíduos que completaram o ensino secundário (6,4 %; IC 95: 3,2 - 12,5 %) e mais baixa nos que concluíram o ensino superior (1,4 %; IC 95: 0,6 - 3,4 %). A seroprevalência foi mais elevada nos indivíduos que referiram ter tido um contacto prévio com um caso suspeito ou confirmado de COVID-19 (22,3 % vs 2,0 %) e naqueles que referiram anosmia ou três ou mais sintomas entre: febre, arrepios, astenia, odinofagia, tosse, dispneia, cefaleias, náuseas/vómitos e diarreia (6,5 %, IC 95: 2,6 – 15,3 %). O valor global de seroprevalência de IgM e IgG específicas contra SARS-CoV-2 estimado no ISN COVID-19 aproxima-se do valor obtido nos estudos sero-epidemiológicos realizados em outros países. O valor estimado é compatível com uma limitada extensão da infecção na população Portuguesa, entre março e junho de 2020, e distante do valor necessário para alcançar a imunidade de grupo (projetado, na literatura, entre 43 a 67 %). As diferenças observadas entre a seroprevalência e a incidência acumulada da infecção reportada pelo SINAVE e a proporção de participantes que, neste estudo, referiu infecção prévia por SARS-CoV-2 são consistentes com a evidência de menor capacidade de captação de casos ligeiros ou assintomáticos pelos sistemas de vigilância. Cerca de 44 % dos indivíduos com anticorpos específicos contra SARS-CoV-2 não referiram ocorrência anterior de sintomas de COVID-19. Os resultados observados no ISN COVID-19 aconselham manter as recomendações de proteção individual e coletiva para todos os indivíduos, independentemente do respetivo nível de anticorpos específicos contra SARS-CoV-2, e suportam a necessidade de monitorizar a evolução da sua seroprevalência na população Portuguesa, de acordo com a evolução da epidemia em Portugal, como recomendado pela Organização Mundial de Saúde.

Índice

Introdução	9
Objetivos	11
Material e Métodos	12
Resultados	21
Discussão	27
Referências Bibliográficas	32
Anexos	40

1. Introdução

A 31 de dezembro de 2019, a Organização Mundial de Saúde (OMS) foi oficialmente informada da ocorrência de um *cluster* de casos de pneumonia em cidadãos residentes na cidade de Wuhan, na China (Li et al. 2020). Inicialmente de etiologia desconhecida, foi, entretanto, confirmado tratar-se de uma infecção provocada por um novo coronavírus, que veio a denominar-se Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave 2 ou SARS-CoV-2 (Gorbalenya et al. 2020). A sua rápida disseminação, inicialmente na China mas, de seguida, em vários outros Países do Mundo, levou a OMS a declarar o surto da doença causada por SARS-CoV-2 como uma Emergência de Saúde Pública de âmbito Internacional (PHEIC) no dia 30 de janeiro de 2020 (World Health Organization 2020a), e como Pandemia no dia 11 de março de 2020 (World Health Organization 2020b). A doença causada pelo novo coronavírus foi, entretanto, denominada pela OMS como *Coronavirus Disease 2019* (COVID-19) (Gorbalenya et al. 2020).

O SARS-CoV-2 foi considerado um membro do género beta-coronavírus (β -CoV) (Zhou et al. 2020), que integra vírus envelopados de RNA de cadeia simples de sentido positivo, os quais podem causar doenças respiratórias, intestinais, hepáticas e neurológicas (Perlman e Netland 2009).

Entre humanos, o SARS-CoV-2 transmite-se principalmente por contato direto, através de gotículas respiratórias. A doença tem um período médio de incubação de 5 dias (Wiersinga et al., 2020), iniciando-se geralmente como uma infecção do aparelho respiratório superior, cujos sintomas mais comuns são febre, tosse e astenia. No entanto, muitos casos apresentam-se com quadros clínicos diferentes, que podem incluir outros sintomas do foro respiratório (especialmente dispneia), sintomas gastrointestinais, sinais e sintomas neurológicos, entre outros (Huang et al. 2020; Ren et al. 2020; Wang et al. 2020; McArthur et al. 2020). A evolução clínica da infecção por SARS-CoV-2 revela um espectro muito variado, desde casos assintomáticos até casos de doença muito grave e fatal, sendo que a elevada maioria dos doentes apresenta uma evolução favorável decorrente de quadro clínico com manifestações ligeiras a moderadas (Perteson et al. 2020; Wiersinga et al. 2020; McArthur et al. 2020).

A maioria das pessoas infetadas pelo SARS-CoV-2 produz respostas imunitárias, humoral e celular, de magnitude frequentemente correlacionada (Ni et al. 2020). A resposta das células B provocada pelo SARS-CoV-2 é demonstrada pela deteção rápida e quase universal de imunoglobulinas (Ig) de tipo IgM, IgG e IgA específicas para o vírus (Huang et al. 2020a).

Os estudos sero-epidemiológicos permitem estimar a seroprevalência da infecção por SARS-CoV-2 na população, a partir da estimação do número total de pessoas que foram infetadas, sintomáticas e assintomáticas, identificadas pelos resultados de testes serológicos adequados à deteção de anticorpos (IgA, IgM, IgG e/ou anticorpos totais) específicos contra o vírus. Deste modo, os estudos sero-epidemiológicos permitem estimar incidências cumulativas e taxas de letalidade mais precisas quando comparadas com as obtidas a partir dos resultados do teste de deteção do RNA viral (RT-PCR) nos doentes. Possibilitam, ainda, identificar fatores de risco para a infecção, avaliar a progressão da infecção na população ao longo do tempo e estimar o tempo de permanência dos anticorpos em circulação no organismo. Considerados cruciais para o planeamento das medidas mais efetivas de controlo da pandemia, os estudos sero-epidemiológicos permitem colmatar lacunas de informação relevantes para a determinação de necessidades de cuidados de saúde, seleção de estratégias de prevenção e, ou avaliação da sua implementação. A determinação periódica de perfis serológicos da população constitui, por isso, uma das formas mais diretas para avaliar o impacto da epidemia na população (Tian e Bjornstad 2020; Cheng et al. 2020; Charlton et al. 2020; Fernandez-Barat et al. 2020; Clapham et al. 2020). Os primeiros estudos sero-epidemiológicos realizados em alguns países Europeus apontam para valores de seroprevalência que variam entre 0 e 8,5 %, dependendo, entre outros fatores, do intervalo de tempo entre a data de realização do estudo e o início da epidemia, da população-alvo estudada, e do tipo de testes utilizados (European Centre for Disease Prevention and Control 2020a).

Em Portugal, o primeiro caso confirmado de COVID-19 foi notificado no dia 2 de março de 2020. Desde então, e até 8 de julho de 2020, foram notificados no País 45.477 casos de doença e 1.644 óbitos causados por COVID-19 (Direção-Geral da Saúde 2020).

Ciente das limitações de conhecimento das características epidemiológicas e serológicas do SARS-CoV-2, bem como da sua capacidade de transmissão na população Portuguesa, e, acrescendo a isso, o reconhecimento das potencialidades dos resultados dos estudos sero-epidemiológicos na resposta às necessidades de informação, Portugal realizou o primeiro Inquérito Serológico Nacional COVID-19 (ISN COVID-19). Coordenado pelo Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) em parceria com a Associação Nacional dos Laboratórios Clínicos (ANLC) e alguns Hospitais do Serviço Nacional de Saúde (SNS), o ISN COVID-19 encontra-se alinhado com as recomendações e propostas de investigação sero-epidemiológicas da OMS e do Centro Europeu de Prevenção e Controlo de Doenças (ECDC).

2. Objetivos

Para o primeiro ISN COVID-19 foram definidos 3 objetivos primários:

1. Caracterizar a distribuição dos anticorpos específicos contra SARS-CoV-2 e determinar a extensão da infecção por SARS-CoV-2 na população residente em Portugal;
2. Determinar e comparar a seroprevalência de anticorpos específicos contra SARS-CoV-2 por grupo etário (1-9, 10-19, 20-59, 60 e mais anos de idade) e por Região de Saúde (RS) (Norte, Centro, Lisboa e Vale do Tejo, Alentejo, Algarve, Região Autónoma (RA) dos Açores e RA da Madeira);
3. Determinar a fração de infecções assintomáticas por SARS-CoV-2 na população residente em Portugal.

3. Material e Métodos

3.1. Desenho de estudo

Foi realizado um estudo epidemiológico observacional, transversal.

3.2. Período de estudo

Este estudo foi realizado após o pico da primeira onda epidémica de COVID-19 em Portugal, durante a segunda e terceira fases de desconfinamento. No entanto, o período de recrutamento foi coincidente com o aumento da atividade epidémica observado após meados de maio, em especial, na Área Metropolitana de Lisboa (Figura 1).

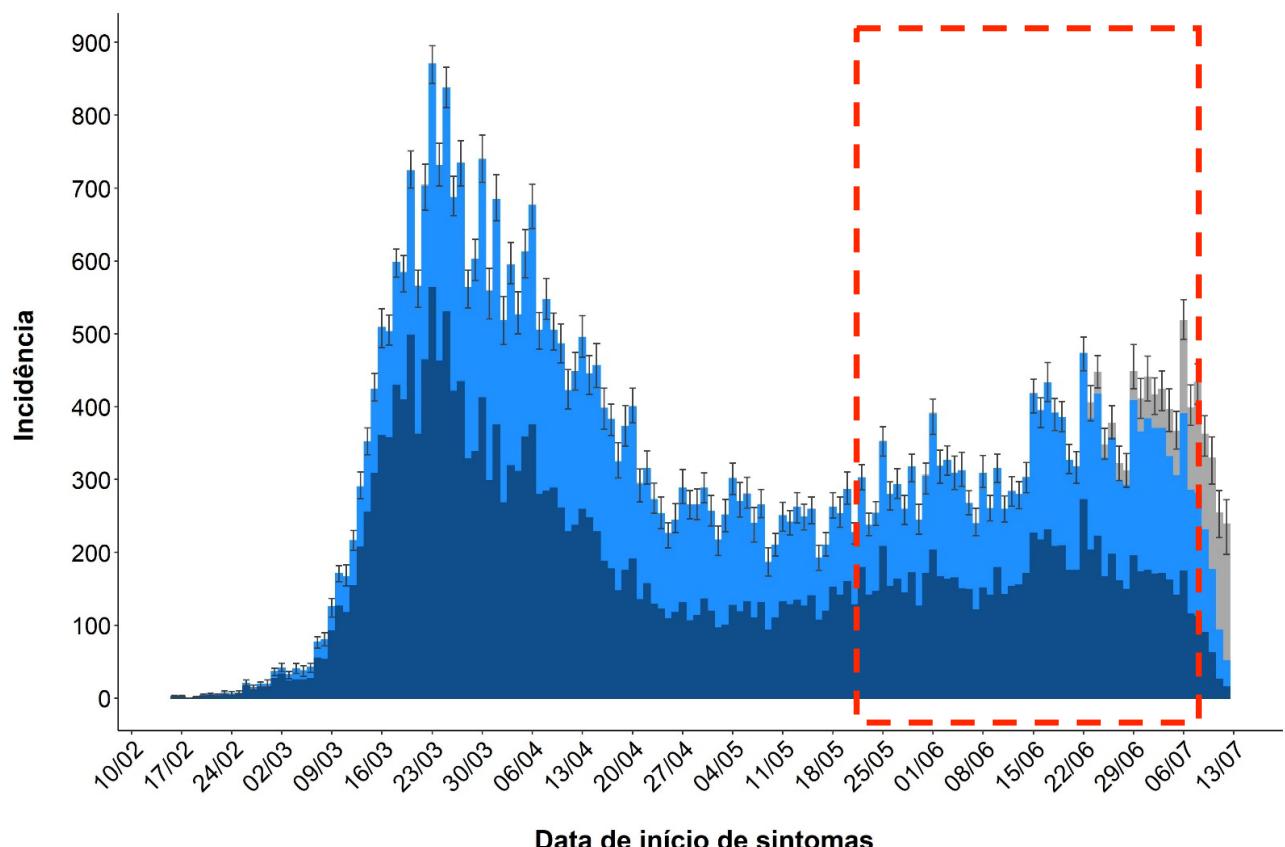


Figura 1. Período de recrutamento do primeiro ISN COVID-19 em relação à curva epidémica (área a tracejado vermelho), corrigida para o atraso da notificação, de COVID-19 em Portugal

Fonte: Evolução do número de casos de COVID-19 em Portugal: Relatório de nowcasting e forecasting, 14 de julho de 2020, INSA (Nunes et al. 2020).

De acordo com os dados provenientes do Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica (SINAVE), a incidência acumulada de COVID-19 no final do período de estudo era de 0,44 % em

Portugal (Direção-Geral da Saúde 2020), observando-se algumas variações por RS, sexo e grupo etário (Quadro 1).

Quadro 1. Incidência acumulada de COVID-19 em Portugal até 8 de julho de 2020, por região, grupo etário e sexo

	Incidência acumulada (%)
Região	
Norte	0,49
Centro	0,19
Lisboa e Vale do Tejo	0,76
Alentejo	0,08
Algarve	0,15
Açores	0,06
Madeira	0,04
Grupo etário (anos)	
0-9	0,16
10-19	0,18
20-59	0,52
≥60	0,45
Sexo	
Masculino	0,41
Feminino	0,46

Fonte: Evolução do número de casos de COVID-19 em Portugal: Relatório de nowcasting e forecasting, 14 de julho de 2020, INSA (Nunes et al. 2020).

3.3. População alvo

A população alvo foi constituída pelos indivíduos residentes em Portugal com 1 ou mais anos de idade.

Critérios de inclusão

Foram convidados a participar todos os indivíduos que se tenham dirigido a um dos pontos de colheita participantes (laboratórios ou hospitais parceiros) durante o período de estudo, com uma prescrição médica para a realização de uma análise que implicasse punção venosa.

Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo os indivíduos sem capacidade de prestar o seu consentimento informado (aqueles com incapacidade física ou mental, demência ou outra condição de saúde que afete a capacidade de compreensão dos objetivos do estudo e do questionário). Foram

igualmente excluídos os indivíduos com condições que possam interferir na resposta imunológica, como: doença hepática crónica, diagnóstico de cancro nos 5 anos anteriores, doenças hematológicas, imunodeficiências (adquiridas ou congénitas), sujeição a tratamentos imunossupressores nos 3 meses anteriores, realização de transplante de órgão ou transfusão sanguínea nos 6 meses anteriores. Embora a ocorrência de infecção anterior por SARS-CoV-2 ou a presença de sinais e sintomas sugestivos de COVID-19 não tenham sido considerados motivos de exclusão, foram excluídos os indivíduos cujo motivo de ida ao laboratório ou hospital fosse a prescrição de um teste de diagnóstico de COVID-19, de modo a evitar a seleção preferencial de participantes com maior risco de infecção por SARS-CoV-2 à data do recrutamento.

3.4. Amostragem

A dificuldade, documentada na literatura, de realizar um estudo desta natureza numa amostra probabilística da população num curto período de tempo e de o repetir periodicamente com a mesma abordagem metodológica, fundamentou a decisão de recorrer a um método de amostragem não-probabilística (amostragem por quotas), anteriormente usado em Portugal nos Inquéritos Serológicos Nacionais às Doenças Evitáveis pela Vacinação, à semelhança de outros Países.

Atendendo aos objetivos de estudo, a amostra foi estratificada por grupo etário (1-9, 10-19, 20-59, 60 e mais anos de idade) com alocação proporcional das unidades amostrais por sexo e alocação homogénea por RS (Norte, Centro, Lisboa e Vale do Tejo, Alentejo, Algarve, Madeira e Açores) de modo a obter estimativas representativas a nível regional com o mesmo nível de precisão.

A dimensão da amostra foi determinada para cada grupo etário tendo em conta as diferenças nas taxas de ataque da infecção por SARS-CoV-2 observadas em Portugal e outros Países no início da epidemia. Foi considerada uma seroprevalência esperada (p) de 2,5 % para os grupos etários menores de 20 anos e uma seroprevalência esperada de 5 % para os restantes, uma precisão absoluta (d) de 2 % e um efeito de desenho ($DEFF$) de 1,5. O tamanho amostral foi calculado de acordo com a seguinte equação:

$$n = \frac{DEFF * N * p * (1 - p)}{\frac{d^2}{z_{1-\frac{\alpha}{2}}^2} * (N - 1) + p * (1 - p)}$$

onde N representa o tamanho da população e z um quantil da distribuição Normal padrão.

Deste modo, a dimensão da amostra foi estabelecida em 352 indivíduos para cada um dos grupos etários abaixo dos 20 anos de idade (1-9 anos e 10-19 anos) e em 684 indivíduos para os restantes grupos etários, correspondendo a um total de 2.072 indivíduos a nível nacional e 296 indivíduos em cada RS . Para assegurar a dimensão prevista da amostra, e compensar eventuais perdas (situações de não elegibilidade ou dados omissos em variáveis críticas para a análise estatística), optou-se por sobredimensionar a amostra inicial em cerca de 15 %. Nas RS Norte, Centro, Lisboa e Vale do Tejo e Alentejo a amostra planeada (sobredimensionada) foi proporcionalmente alocada por NUTS III, enquanto que no Algarve e nas RA foram usadas áreas geográficas menores, uma vez que cada uma destas regiões é composta por uma única NUTS III. Em cada uma destas unidades geográficas foram selecionados aleatoriamente municípios, nos quais foram posteriormente selecionados os pontos de colheita dos laboratórios e hospitais participantes (Figura 2). A distribuição da amostra planeada por RS, NUTS III e grupo etário encontra-se apresentada no Anexo 1.

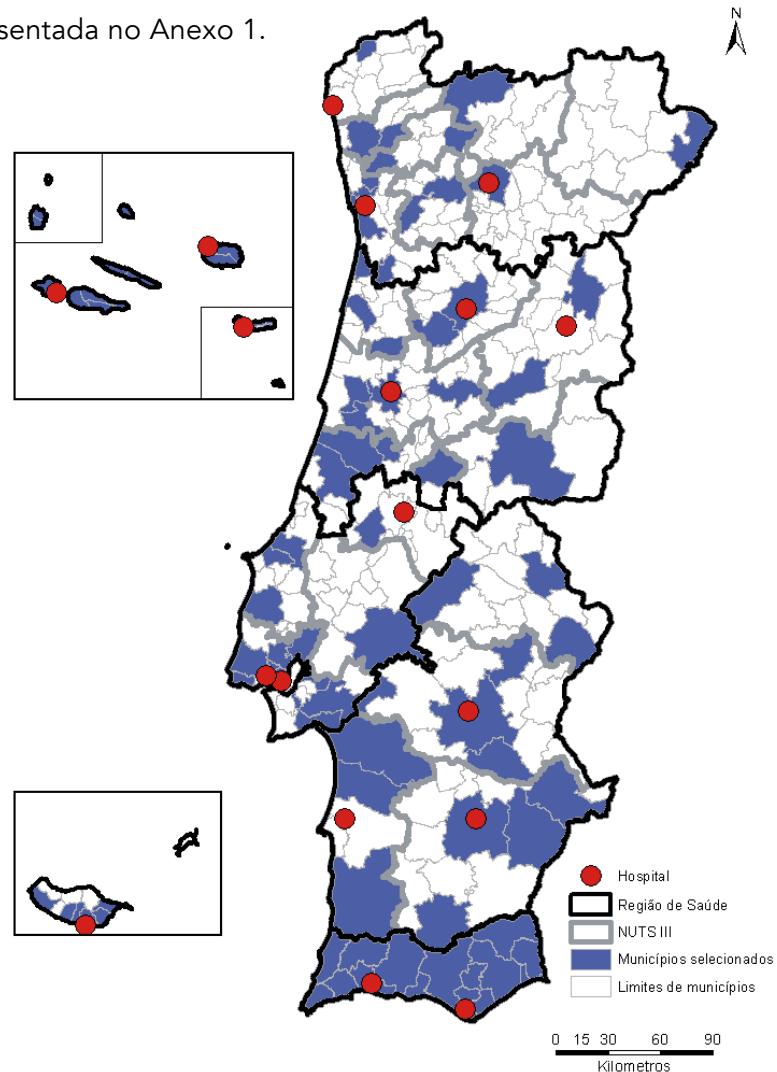


Figura 2. Mapa da distribuição geográfica dos municípios selecionados para o primeiro ISN COVID-19.

3.5. Instrumento de recolha de dados

Foi aplicado um questionário constituído por 3 partes: caracterização demográfica e social; antecedentes clínicos e epidemiológicos (incluindo contacto com caso suspeito ou confirmado de COVID-19 e diagnóstico anterior de infecção por SARS-CoV-2); e sintomatologia compatível com COVID-19 ocorrida desde março de 2020 (Anexo 2).

3.6. Trabalho de campo

Participaram no estudo 96 pontos de colheita de 7 Laboratórios de Patologia Clínica da ANLC e 18 hospitais do SNS. Os hospitais das RA coordenaram o recrutamento dos participantes noutras unidades de saúde da Região.

O trabalho de campo decorreu entre 21 de maio e 8 de julho de 2020, tendo sido realizado um pré-teste em 3 postos de colheita e num dos hospitais participantes no dia 21 de maio, por forma a testar o questionário e os circuitos de comunicação.

De entre os utilizadores dos laboratórios de análises clínicas foram recrutados maioritariamente participantes com 19 ou mais anos de idade e, pelo contrário, de entre os utentes dos hospitais foram recrutados maioritariamente participantes menores de 19 anos. Nas situações em que a distribuição geográfica dos pontos de colheita não cobria a totalidade dos municípios selecionados, foram recrutados adultos nos hospitais parceiros, o que se verificou nos Hospitais das RA e no Hospital de Beja.

A cada um dos participantes recrutados (ou aos seus representantes legais) foi solicitado o consentimento informado escrito e o preenchimento do questionário acima referido. O questionário foi preenchido em suporte de papel, tendo sido a informação posteriormente digitalizada através de leitura ótica.

As amostras de sangue (3-5 ml no caso dos adultos e 1-2 ml no caso das crianças) foram colhidas por técnicos de análises clínicas e enfermeiros.

O questionário e a amostra biológica de cada participante foram identificados através de um código único, específico do estudo, possibilitando a pseudonimização dos dados para a equipa de investigação. Apenas os profissionais de saúde do laboratório tinham acesso à chave de codificação.

As amostras foram acondicionadas no ponto de colheita e transportadas em ambiente refrigerado para o INSA no prazo máximo de 7 dias após a colheita. Sempre que se verificou um maior

intervalo de tempo entre a colheita e o envio ao INSA, os soros foram congelados e mantidos desta forma durante o transporte e até à sua análise.

A comunicação dos resultados aos participantes que referiram pretender receber os resultados, foi realizada pelas Direções Técnicas dos laboratórios parceiros bem como pelos médicos que recrutaram os participantes nos hospitais parceiros.

3.7. Procedimentos laboratoriais

Para a deteção dos anticorpos específicos contra SARS-CoV-2 no âmbito do primeiro ISN COVID-19, foram selecionados *kits* de diagnóstico que permitiram detetar as imunoglobulinas do tipo IgA, IgG, IgM e anticorpos totais.

A deteção semi-quantitativa dos anticorpos do tipo IgA e IgG contra o SARS-CoV-2 foi realizada em amostras de soro pelo ensaio imunoenzimático da marca *Euroimmun Anti-SARS-CoV-2 ELISA* (ensaio de imunoabsorção enzimática) no analizador *Euroimmun Analyser I-2P*, seguindo as instruções do fabricante. Trata-se de um ensaio imunoenzimático (ELISA) que permite a deteção de anticorpos específicos utilizando o antígeno constituído pela subunidade da proteína estrutural S1 do SARS-CoV-2. A deteção qualitativa dos anticorpos totais e do tipo IgM foi efetuada nos soros dos participantes pelo teste imunoenzimático (ELISA) da marca *Wantai SARS-CoV-2 ELISA* no analizador automático *Dynex DS2 ELISA Processor*, seguindo as instruções do fabricante.

Os testes de deteção de IgM e de anticorpos totais (incluindo IgA, IgG e IgM) são imunoensaios que permitem a deteção de anticorpos específicos utilizando o antígeno recombinante constituído pelo Receptor Binding Domain (RBD) da proteína estrutural S do SARS-CoV-2.

Para todos os soros dos participantes foram realizadas as determinações dos anticorpos específicos contra SARS-CoV-2 dos tipos IgA, IgG, IgM e anticorpos totais. Os resultados para a presença de anticorpos foram determinados como *positivo*, *negativo* e *inconclusivo* de acordo com as especificações dos testes e recomendações do fabricante. As determinações com resultado *inconclusivo*, ou com uma determinação não concordante com o perfil das restantes determinações, foram repetidas utilizando as mesmas metodologias. Quando o resultado das duas determinações foi discordante, o resultado foi considerado *inconclusivo*.

Previamente à realização do primeiro ISN COVID-19 foram realizados estudos de validação de vários testes serológicos, usando uma seleção de soros de doentes com infecção SARS-CoV-2 confirmada por RT-PCR e de soros colhidos anteriormente a março de 2020 (Anexo 3). No âmbito

do presente estudo, foram selecionados os testes serológicos que apresentaram valores de sensibilidade superiores a 92 % e valores de especificidade superiores a 98 %.

3.8. Definições de caso

Para efeitos do presente estudo foram consideradas as seguintes definições de caso seropositivo para SARS-CoV-2:

- Positividade para os anticorpos totais ou IgM ou IgG específicos contra SARS-CoV-2 (definição caso 1);
- Positividade para IgM ou IgG específicos contra SARS-CoV-2 (definição caso 2);
- Positividade para dois dos seguintes parâmetros: IgM, IgG, anticorpos totais específicos contra SARS-CoV-2 (definição caso 3).

Para efeitos da análise no presente estudo não foram considerados os resultados da detecção de anticorpos IgA específicos contra SARS-CoV-2, dada a menor especificidade do teste em populações de baixa prevalência de infecção por SARS-CoV-2 (Snoeck et al. 2020).

Para a definição de indivíduo sintomático foi considerada a definição de caso possível de COVID-19 do ECDC de 29 de maio de 2020, que consiste na presença de febre ou tosse ou dispneia ou início súbito de anosmia ou ageusia ou disgeusia (European Centre for Disease Prevention and Control 2020b). Para efeitos de comparação com outros estudos foram também consideradas as definições utilizadas no Inquérito Serológico Espanhol (Pollán et al. 2020):

- Sintomático - anosmia ou três ou mais dos seguintes sintomas ou sinais: febre, arrepios, astenia, odinofagia, tosse, dispneia, cefaleias, náusea/vómitos e diarreia;
- Paucissintomático - 1 ou 2 dos sintomas anteriores sem anosmia;
- Assintomático.

3.9. Análise estatística

Os indicadores da seroprevalência de anticorpos específicos contra SARS-CoV-2 foram estimados segundo as definições referidas na secção 3.8 para o total da população e estratificados pelas variáveis sexo, grupo etário (1-9, 10-19, 20-39, 40-59 e ≥ 60 anos), nível de escolaridade (sem escolaridade ou 1º ciclo, 2º ou 3º ciclo, ensino secundário e ensino superior), situação perante o trabalho (pessoas empregadas ou outra situação), contacto com caso confirmado/suspeito de

COVID19 e presença de sintomas compatíveis com COVID-19. Para todas as estimativas pontuais foram calculados os respetivos intervalos de confiança a 95 % (IC 95).

Todos os indicadores estimados a nível nacional, assim como para os subgrupos específicos da população, foram ponderados para a distribuição da população residente em Portugal em 2019, por região, sexo e grupo etário (Instituto Nacional de Estatística 2019). Para o cálculo de pesos amostrais foi adotada a metodologia utilizada anteriormente no Inquérito Serológico Nacional às Doenças Evitáveis pela Vacinação 2015 (Palminha et al. 2015).

As estimativas de seroprevalência foram comparadas entre vários grupos populacionais, utilizando o teste Qui-quadrado de Rao-Scott adaptado para desenho amostral complexo (Rao e Scott 1984), tendo sido estabelecido um nível de significância de 5 %.

Para remover o efeito do sexo e estrutura etária, as estimativas de seroprevalência estratificadas por região, nível de escolaridade e situação perante o trabalho foram padronizadas pelo método direto utilizando a população residente em Portugal em 2019 (Instituto Nacional de Estatística 2019) como população-padrão.

Foi estimado o coeficiente de correlação de Pearson entre as taxas de ataque por região e as seroprevalências observadas.

A análise estatística foi desenvolvida recorrendo ao software Stata, versão 15.1 para Windows® (StataCorp 2017).

3.10. Controlo de qualidade

Para uniformização dos procedimentos relativos ao recrutamento, colheita, e transporte de amostras, foram desenvolvidos manuais de procedimentos específicos e realizadas sessões de formação com todas as entidades parceiras do estudo sobre os procedimentos do trabalho de campo. Os manuais e outros materiais de formação foram disponibilizados aos coordenadores locais da recolha de dados, que replicaram as sessões de formação para todos os profissionais de saúde envolvidos no processo de recrutamento e recolha de dados e amostras biológicas.

De modo a identificar e corrigir precocemente os desvios à estrutura da amostra dos participantes recrutados, o processo de recrutamento foi monitorizado diariamente pela equipa de investigação do Departamento de Epidemiologia do INSA, através da análise do registo diário dos participantes recrutados em cada ponto de colheita e do número de amostras e questionários rececionados. Sempre que foram identificados desvios à estrutura demográfica da amostra previamente definida para cada RS, foi reforçado o recrutamento nos pontos de colheita

dessa Região. O processo de monitorização do trabalho de campo incluiu também uma avaliação sistemática da qualidade de preenchimento dos questionários no momento da sua receção no INSA. Os desvios de qualidade identificados foram comunicados aos coordenadores locais da recolha de dados e os pontos de melhoria transversais a vários postos da colheita foram comunicados às equipas, nas reuniões periódicas com os coordenadores das equipas de campo e através de uma *news/letter* semanal. As condições de colheita e transporte das amostras foram monitorizadas pela equipa de investigação do Departamento de Doenças Infeciosas do INSA. No que respeita à inclusão dos dados na base de dados para análise estatística, foi conduzida uma dupla entrada de variáveis críticas (data de nascimento, idade, sexo e código de participante), tendo sido verificadas e corrigidas todas as situações incongruentes. Foi igualmente feita a validação dos valores atípicos e incongruências na base de dados. Todas as variáveis com valores omissos foram individualmente verificadas e validadas com informação constante no questionário em papel. As variáveis críticas com informação omissa ou incongruente foram recuperadas junto dos pontos de colheita.

Adicionalmente, a análise estatística foi realizada de forma independente por dois elementos da equipa do Departamento de Epidemiologia do INSA, por forma a validar os resultados obtidos.

3.11. Considerações éticas

O protocolo do estudo obteve o parecer favorável da Comissão de Ética para a Saúde, bem como do Encarregado de Proteção de Dados do INSA. Foi obtido o consentimento informado escrito de todos os participantes (ou dos seus representantes legais).

4. Resultados

4.1. Participantes

Foram recrutados para o estudo 2.344 indivíduos. Das pessoas recrutadas, foram excluídas do estudo: 18 por falta de consentimento informado assinado, 12 por terem idade inferior a 1 ano, 11 por apresentarem algum dos critérios de exclusão referidos anteriormente no presente relatório, e 2 por ausência do questionário ou da amostra biológica. Deste modo, a dimensão da amostra em estudo foi de 2.301 participantes.

A comparação entre a dimensão da amostra planeada e da amostra em estudo é apresentada no Quadro 2. Globalmente, a amostra em estudo ($n=2.301$) foi superior à planeada ($n=2.072$), embora com alguns desvios. A nível regional, a dimensão da amostra em estudo foi superior ao planeado em todas as RS, com exceção do Alentejo onde foi possível atingir apenas 90 % da quota. No global da amostra, as quotas estabelecidas foram alcançadas em 3 dos 4 grupos etários em estudo (1-9, 10-19 e 20-59 anos). No grupo etário 60 ou mais anos, foram recrutados 664 indivíduos, o que correspondeu a 97 % do tamanho amostral planeado. Tendo em conta o maior número de indivíduos recrutados no grupo etário entre os 20 e 59 anos, optou-se, durante a análise estatística, por subdividir este grupo em dois subgrupos menores: 20-39 anos e 40-59 anos.

Quadro 2. Comparação entre a dimensão da amostra planeada e em estudo por região e grupo etário do primeiro ISN COVID-19

	Amostra planeada (n)	Amostra em estudo (n)
Região		
Norte	296	327
Centro	296	335
Lisboa e Vale do Tejo	296	343
Alentejo	296	266
Algarve	296	351
Madeira	296	329
Açores	296	350
Grupo etário (anos)		
1-9	352	404
10-19	352	377
20-59	684	856
≥ 60	684	664

As características da amostra em estudo encontram-se resumidas no Quadro 3. Dos 2.301 indivíduos que participaram no ISN COVID-19, 52,8 % eram do sexo feminino. A distribuição da

amostra pelos quatro grupos etários variou entre 7,9 % no grupo etário entre 1 e os 9 anos e 52,9 % no grupo etário entre os 20 e os 59 anos. No que respeita às características socioeconómicas, nos indivíduos com 20 ou mais anos de idade, observou-se que 21,1 % não possuía qualquer nível de escolaridade ou escolaridade equivalente ao 1º ciclo do ensino básico, 22,6 % concluiu o 2º ou 3º ciclo do ensino básico, 23,5 % concluiu o ensino secundário e 32,9 % concluiu o ensino superior. Note-se que para os indivíduos com idade entre 1 e 19 anos estas variáveis foram consideradas “não aplicáveis”. Do total dos participantes, 18,3 % reportaram ter 2 ou mais doenças crónicas.

Quadro 3.Características da amostra em estudo no primeiro ISN COVID-19

	n	%	%*
Sexo			
Masculino	1.057	45,9	47,2
Feminino	1.244	54,0	52,8
Grupo etário (anos)			
1-9	404	17,6	7,9
10-19	377	16,4	10,3
20-39	377	16,4	23,1
40-59	479	20,8	29,8
≥ 60	664	28,9	29,0
Região			
Norte	327	14,2	34,8
Centro	335	14,6	16,0
Lisboa e Vale do Tejo	343	14,9	35,6
Alentejo	266	11,6	4,5
Algarve	351	15,5	4,3
Madeira	329	14,3	2,5
Açores	350	15,2	2,4
Nível de escolaridade**			
Nenhum/1º ciclo do ensino básico	426	28,2	21,1
2º ou 3º ciclo do ensino básico	352	23,3	22,6
Ensino secundário	340	22,5	23,5
Ensino superior	394	26,1	32,9
Situação perante o trabalho **			
Empregado	810	53,9	59,8
Outra situação	693	46,1	40,2
Doenças crónicas			
0-1	1.762	81,9	81,7
≥ 2	387	18,1	18,3

*Percentagem ponderada para a distribuição da população residente em Portugal em 2019 por região, sexo e grupo etário. **Apenas para maiores de 19 anos.

Relativamente aos antecedentes de COVID-19, 5,1 % (IC 95: 3,7 – 6,8 %) dos participantes reportou ter tido contacto com um caso confirmado ou suspeito de COVID-19. Do total dos participantes, 8,8 % (IC 95: 7,1 – 10,8 %) referiu ter realizado previamente um teste de diagnóstico de infecção por SARS-CoV-2. Dependendo da definição de indivíduo sintomático usada, entre 11,1 % e 15,8 % dos participantes referiram sintomas compatíveis com COVID-19 desde o início de março de 2020. Por outro lado, cerca de 0,8 % (IC 95: 0,4 – 1,9 %) referiu uma infecção prévia por SARS-CoV-2 (Quadro 4).

Quadro 4. Características da amostra em estudo no primeiro ISN COVID-19 segundo os antecedentes de COVID-19

	n	%*	IC 95
Contacto anterior			
Não	1.909	75,9	(72,9 – 78,6)
Sim	81	5,1	(3,7 - 6,8)
Desconhece	304	19,1	(16,6 – 21,8)
Teste diagnóstico SARS-CoV-2 anterior			
Não	1.870	91,2	(89,2 - 92,9)
Sim	221	8,8	(7,1 - 10,8)
Sintomatologia anterior**			
Não	1.890	84,2	(81,8 – 86,3)
Sim	379	15,8	(13,7 – 18,2)
Sintomatologia anterior ***			
Assintomático	1.428	64,2	(61,1 - 67,2)
Paucissintomático	557	24,6	(22,0 - 27,5)
Sintomático	246	11,1	(9,3 – 13,3)
Infeção prévia por SARS-CoV-2			
Não	2.286	98,9	(97,8 – 99,5)
Sim	12	0,8	(0,4 - 1,9)
Desconhece	3	0,2	(0,0 - 1,2)

*Percentagem ponderada para a distribuição da população residente em Portugal em 2019 por região, sexo e grupo etário; **Definição de caso possível do ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control 2020b); ***Definição de Pollán et al. (Pollán et al. 2020).

4.2. Seroprevalência para SARS-CoV-2

Tal como referido anteriormente, a seroprevalência de anticorpos específicos contra SARS-CoV-2 foi estimada considerando três diferentes definições: 1) positividade para IgM ou IgG ou anticorpos totais; 2) positividade para IgM ou IgG; e 3) positividade em pelo menos duas determinações (IgM, IgG ou anticorpos totais). A primeira definição é a mais sensível, sendo a última a mais específica. No entanto, apesar das estimativas pontuais decrescerem à medida que a definição se torna mais restrita, não foram identificadas diferenças estatisticamente significativas

entre elas. Neste sentido, por uma questão de comparabilidade com outros estudos internacionais, optámos por considerar a segunda definição de caso para a descrição da seroprevalência na população Portuguesa (presença de IgM ou IgG específicos contra SARS-CoV-2) (Quadro 5).

Quadro 5. Seroprevalência de anticorpos específicos contra SARS-CoV-2 na população Portuguesa, no âmbito do primeiro ISN COVID-19

	%* (IC 95)
IgM ou IgG ou Ac totais	3,4 (2,4-4,8)
IgM ou IgG	2,9 (2,0-4,2)
> 2 positivos (IgM, IgG, Ac totais)	1,4 (0,7-2,5)

*Percentagem ponderada para a distribuição da população residente em Portugal em 2019, por região, sexo e grupo etário.

No Quadro 6 é apresentada a seroprevalência (presença de IgM ou IgG específicas contra SARS-CoV-2) segundo as características da população. Verificou-se que, dos 2.301 indivíduos estudados, 1,9 % (IC 95: 1,1 – 3,1 %) mostraram ter um resultado positivo para IgM e 1,9 % (IC 95: 1,2 - 3,1 %) um resultado positivo para IgG específica contra SARS-CoV-2.

A seroprevalência a nível nacional foi de 2,9 % (IC 95: 2,0 – 4,2 %), sendo mais elevada entre os indivíduos do sexo masculino (4,1 %; IC 95: 2,6 – 6,6 %) comparativamente aos do sexo feminino (1,8 %; IC 95: 0,9 - 3,4 %) ($p=0,03$).

A seroprevalência apresentou valores semelhantes nos vários grupos etários em estudo ($p=0,98$), variando entre 2,2 % (IC 95: 0,8 – 5,5 %) no grupo etário dos 10 aos 19 anos e 3,2 % (IC 95: 1,5 – 6,7 %) no grupo etário dos 40 aos 59 anos.

Entre as diferentes regiões, a seroprevalência variou entre 1,2 % (IC 95: 0,3 - 4,0 %) no Alentejo e 3,5 % (IC 95: 1,9 - 6,3 %) em Lisboa e Vale do Tejo, embora sem significado estatístico ($p=0,71$). Resultados semelhantes foram obtidos após padronização para o sexo e a idade (Anexo 4). Verificou-se uma forte correlação ($R=0,80$) entre os valores estimados de seroprevalência de IgM e IgG específicos contra SARS-CoV-2 e a incidência acumulada reportada pelo sistema de vigilância por região (Anexo 4).

A seroprevalência foi mais elevada entre os indivíduos que concluíram o ensino secundário (6,4 %; IC 95: 3,2 -12,5 %) e mais baixa entre os indivíduos que concluíram o ensino superior (1,4 %; IC 95: 0,6-3,4 %). As diferenças observadas foram estatisticamente significativas ($p=0,01$), mantendo-se quando padronizadas para o sexo e a idade (Anexo 4).

Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas na distribuição da seroprevalência segundo a situação perante o trabalho e segundo a presença de 2 ou mais doenças crónicas.

Segundo os antecedentes de COVID-19 e a sintomatologia compatível com COVID-19 reportada pelos participantes desde março de 2020, destaca-se uma prevalência mais elevada nos indivíduos que referiram ter tido um contacto prévio com caso suspeito ou confirmado de COVID-19 (22,3 % vs. 2,0 %, $p<0,001$) e naqueles com sintomatologia compatível com a definição de caso possível de COVID-19 do ECDC (6,1 % vs. 2,3 %, $p=0,02$). No que se refere à presença de outros sinais ou sintomas, destacam-se prevalências mais elevadas nos indivíduos que referiram anosmia ou três ou mais sinais ou sintomas entre os seguintes: febre, arrepios, astenia, odinofagia, tosse, dispneia, cefaleia, náusea/vómitos e diarreia (6,5%, IC95: 2,6 –15,3 %).

Quadro 6. Seroprevalência de IgM e IgG específicas contra SARS-CoV-2, segundo as características da população Portuguesa, no âmbito do primeiro ISN COVID-19

	IgM %* (IC 95)	<i>p</i>	IgG %* (IC 95)	<i>p</i>	IgM ou IgG %* (IC 95)	<i>p</i>
Total	1,9 (1,1-3,1)		1,9 (1,2-3,1)		2,9 (2,0-4,2)	
Sexo		0,09			0,10	0,03
Masculino	2,7 (1,5-5,0)		2,8 (1,5-4,9)		4,1 (2,6-6,6)	
Feminino	1,1 (0,4-2,7)		1,2 (0,5-2,7)		1,8 (0,9-3,4)	
Grupo etário		0,20			0,61	0,98
1-9	1,6 (0,5-5,1)		2,1 (0,8-5,4)		2,9 (1,3-6,2)	
10-19	0,6 (0,1-3,6)		2,1 (0,8-5,5)		2,2 (0,8-5,5)	
20-39	2,2 (0,8-5,9)		0,7 (0,1-4,8)		2,9 (1,2-7,0)	
40-59	3,1 (1,4-6,7)		2,4 (0,9-5,9)		3,2 (1,5-6,7)	
≥ 60	0,9 (0,3-2,5)		2,4 (1,1-4,9)		2,9 (1,5-5,3)	
Região		0,84			0,27	0,71
Norte	2,1 (0,8-5,4)		2,1 (0,9-5,0)		2,8 (1,3-6,0)	
Centro	2,2 (1,0-5,0)		0,9 (0,3-3,1)		2,7 (1,3-5,5)	
Lisboa e Vale do Tejo	1,6 (0,6-4,1)		2,7 (1,4-5,2)		3,5 (1,9-6,3)	
Alentejo	1,0 (0,2-4,1)		0,8 (0,2-3,9)		1,2 (0,3-4,0)	
Algarve	2,1 (0,9-4,9)		0,1 (0,0-1,0)		2,2 (1,0-5,0)	
Madeira	1,0 (0,3-2,9)		0,6 (0,1-2,9)		1,6 (0,6-3,9)	
Açores	0,7 (0,1-3,1)		2,4 (1,1-5,0)		2,6 (1,3-5,2)	
Doenças crónicas		0,80			0,59	0,65
0-1	1,8 (1,0-3,3)		2,1 (1,3-3,6)		3,0 (1,9-4,6)	
≥ 2	1,5 (0,5-4,2)		1,5 (0,4-4,9)		2,4 (1,0-5,5)	
Nível de escolaridade**		0,01			<0,001	0,01
Nenhum/1º ciclo do ensino básico	1,5 (0,4-5,4)		1,5 (0,5-4,6)		3,0 (1,3-7,0)	
2º ou 3º ciclo do ensino básico	1,5 (0,5-4,5)		0,7 (0,2-2,3)		1,7 (0,6-4,5)	
Ensino secundário	5,0 (2,2-10,9)		5,0 (2,2-10,7)		6,4 (3,2-12,5)	
Ensino superior	0,7 (0,2-2,0)		0,8 (0,2-2,9)		1,4 (0,6-3,4)	

Situação perante o trabalho**	0,03	0,21	0,13
Empregado	2,9 (1,6-5,4)	2,4 (1,2-4,7)	3,8 (2,2-6,3)
Outra situação	0,7 (0,2-2,4)	1,2 (0,4-3,0)	1,9 (0,9-4,0)
Contacto anterior	0,001	<0,001	<0,001
Não	1,2 (0,6-2,4)	0,9 (0,5-1,7)	2,0 (1,2-3,3)
Sim	16,3 (7,3-32,3)	20,5 (10,2-36,9)	22,3 (11,7-38,5)
Desconhece	0,7 (0,2-3,5)	1,1 (0,3-4,3)	1,3 (0,4-4,2)
Sintomatologia anterior ***	0,001	0,01	0,02
Não	1,3 (0,7-2,4)	1,4 (0,8-2,4)	2,3 (1,5-3,7)
Sim	5,2 (2,3-11,5)	5,1 (2,3-11,3)	6,1 (3,0-12,1)
Sintomatologia anterior §	0,001	<0,001	0,06
Assintomático	0,8 (0,4-1,8)	1,5 (0,8-2,8)	2,0 (1,2-3,4)
Paucissintomático	2,8 (1,2-6,4)	1,2 (0,5-2,9)	3,7 (1,8-7,2)
Sintomático	6,3 (2,4-15,3)	6,3 (2,5-15,3)	6,5 (2,6-15,3)

*Percentagem ponderada para a distribuição da população residente em Portugal em 2019 por região, sexo e grupo etário;

Apenas para maiores de 19 anos. *Definição de caso possível do ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control 2020b); §Definição de Pollán et al. (Pollán et al. 2020).

Do total de indivíduos com IgM ou IgG específicas contra SARS-CoV-2, 44,5 % não referiu sintomas compatíveis com COVID-19 desde março de 2020 (Quadro 7). Embora sem significado estatístico, este valor é menor nas pessoas com IgM positiva, sendo que naquelas com presença de IgG específica contra SARS-CoV-2 parece haver um gradiente crescente com o número de sintomas.

Quadro 7. Proporção de indivíduos com IgM ou IgG específicas contra SARS-CoV-2 segundo sintomatologia anterior * no âmbito do primeiro ISN COVID-19

	IgM %** (IC 95)	IgG %* *(IC 95)	IgM ou IgG %* *(IC 95)
Assintomático	28,1(12,6 - 51,5)	49,2 (26,8 - 72,0)	44,5 (26,9 - 63,6)
Paucissintomático	35,5 (15,8 - 61,7)	14,6 (5,5 - 33,7)	30,9 (16,1 - 51,1)
Sintomático	36,5 (15,6 - 64,1)	36,1 (15,8 - 63,0)	24,6 (10,4 - 47,8)

*Definição proposta por Pollán et al. (Pollán et al. 2020). Percentagem ponderada para a distribuição da população residente em Portugal em 2019 por região, sexo e grupo etário.

5. Discussão

A condução do primeiro Inquérito Serológico Nacional COVID-19 permitiu estimar uma seroprevalência de IgM ou IgG específicas contra SARS-CoV-2 de 2,9 % (IC 95: 2,0 – 4,2 %). Se considerada uma definição mais sensível (presença de anticorpos IgM, IgG ou anticorpos totais) a seroprevalência estimada foi de 3,4 % (IC 95: 2,4 – 4,8 %). Por outro lado, para uma definição mais específica (resultado positivo em pelo menos dois dos parâmetros: IgM, IgG ou anticorpos totais), a seroprevalência estimada foi de 1,4 % (IC 95: 0,7 – 2,5 %). É de notar que nenhum destes valores difere significativamente, pelo que se optou por reportar a seroprevalência usando a definição mais frequentemente utilizada em outros estudos sero-epidemiológicos de âmbito populacional (presença de IgM ou IgG) desenvolvidos, nomeadamente, em países como Espanha, Dinamarca, Itália, Croácia, Brasil, China e Estados Unidos da América (Amorim Filho et al. 2020; Bendavid et al. 2020; Erikstrup et al. 2020; Fiore et al. 2020; Fontanet et al. 2020; Gomes et al. 2020; Hallal et al. 2020; Jerkovic et al. 2020; Pollán et al. 2020; Sood et al. 2020; Tess et al. 2020; Valenti et al. 2020; Wu et al. 2020; Xu et al. 2020).

Observou-se que qualquer um desses valores é superior à taxa de ataque (incidência acumulada) da infecção por SARS-CoV-2 reportada pelo SINAVE à data do fim do período da recolha de dados (0,44 %) (Direção-Geral da Saúde 2020). Acresce que, embora na amostra em estudo 0,8 % dos participantes tenham referido um resultado de teste diagnóstico de infecção por SARS-CoV-2 anterior positivo, sendo, portanto, um valor pontual superior ao reportado pelo SINAVE, estatisticamente o mesmo não difere do valor das estatísticas oficiais, pelo que consideramos não ser esta a razão da diferença encontrada. A diferença entre a seroprevalência e a incidência acumulada era expectável e tem sido observada também noutros estudos sero-epidemiológicos (Rosenberg et al. 2020; Salje et al. 2020; Xu et al. 2020; Havers et al. 2020; Pollán et al. 2020). Considera-se que possa ser atribuída ao facto da identificação dos casos durante a fase aguda da doença fornecer informação limitada sobre o estado da epidemia, o que pode refletir a variabilidade da gravidade da doença, bem como a estratégia de testagem adotada, a proporção de indivíduos testados, o acesso aos serviços de saúde e os comportamentos de procura de cuidados de saúde, uma vez que os casos ligeiros ou assintomáticos não são captados na totalidade pelos sistemas de vigilância (Peterson et al. 2020; Wiersinga et al. 2020).

Relativamente à distribuição geográfica, apesar de não serem observadas diferenças estatisticamente significativas, observa-se uma forte correlação ($R=0,80$) entre a incidência acumulada e a seroprevalência estimada por Região de Saúde (Anexo 4). Destaca-se que a Região de Lisboa e Vale do Tejo é aquela em que se estimou uma prevalência pontual mais elevada, sendo também a que apresenta uma incidência acumulada de maior magnitude durante o período de estudo, o que indica a plausibilidade dos resultados encontrados. Esta correlação também se encontra descrita noutros estudos sero-epidemiológicos (Rosenberg et al. 2020; Xu et al. 2020).

Apesar do encerramento das fronteiras entre Portugal e Espanha, entre meados de março e junho, os resultados deste estudo encontram-se próximos dos valores estimados nas Províncias Espanholas que fazem fronteira com Portugal, onde se observaram, também, taxas de ataque mais baixas (0,5 – 7,9 %) do que nas Províncias centrais Espanholas, mais afectadas pela epidemia, nas quais a seroprevalência foi de cerca de 11 % (Pollán et al. 2020).

No que se refere à seroprevalência por grupo etário, destacamos a ausência de diferenças estatisticamente significativas entre os grupos etários estudados, o que pode indicar que os grupos etários mais jovens, onde a incidência acumulada reportada pelo sistema de vigilância é menor, possam ser aqueles nos quais ocorrem maior número de infecções assintomáticas, que, segundo vários autores, pode variar entre 4 e 28 % (Dong et al. 2020; Wu et al. 2020b; Bialek et al. 2020; Qiu et al. 2020). Admite-se que a prevalência em idades superiores a 60 anos possa estar sub-estimada, uma vez que nesta população, em especial nas idades mais velhas, a transmissão da infecção ocorreu com maior intensidade nas comunidades institucionalizadas não captadas por estudos de base populacional, as quais deverão ser estudadas de forma específica. Um dos principais resultados deste estudo é a maior seroprevalência no sexo masculino quando comparada com o sexo feminino. De facto, tal encontra-se em conformidade com estudos realizados em modelos animais que reportaram uma expressão em maior quantidade da Enzima de Conversão da Angiotensina 2 (ECA2) nos indivíduos do sexo masculino, o que pode justificar a maior gravidade observada nos homens (Song et al. 2020). Porém, a literatura não é consensual quanto ao maior risco de infecção no sexo masculino e na maioria dos outros estudos sero-epidemiológicos não é identificada esta diferença entre sexos (Erikstrup et al. 2020; Fontanet et al. 2020; Hallal et al. 2020; Jerković et al. 2020; Pollán et al. 2020; Rosenberg et al. 2020; Shakiba et al. 2020; Slot et al. 2020; Sood et al. 2020; Stringhini et al. 2020). É de referir que, considerando a definição de caso que inclui apenas IgG ou apenas IgM específicas contra SARS-

CoV-2, as diferenças observadas entre os homens e mulheres não foram significativas. Por outro lado, as taxas de ataque em Portugal não revelam, globalmente, diferenças entre homens e mulheres, pelo que estes resultados podem advir de diferentes características nos homens e mulheres em estudo. Em concreto, observamos diferenças no nível de escolaridade, com maior percentagem de homens com anticorpos anti-SARS-CoV-2 com ensino secundário completo quando comparados com as mulheres, o que pode indicar que o nível de exposição ao SARS-CoV-2 pode variar de acordo com a ocupação profissional associada ao nível de escolaridade.

No que respeita aos antecedentes de COVID-19 observa-se, como esperado, uma prevalência mais elevada no grupo que reportou ter tido um contacto com caso de COVID-19 e nos indivíduos com sintomatologia compatível com COVID-19 desde o início de março de 2020, sendo que a prevalência foi superior nas pessoas com um maior número de sintomas. Ainda assim, cerca de 44 % dos indivíduos com IgM ou IgG anti-SARS-CoV-2 não apresentaram qualquer sintoma de COVID-19, valor que se revela superior ao reportado no inquérito Serológico Espanhol (21,9 % - 38,5 %) (Pollán et al. 2020), mas em linha com outros estudos internacionais que, dependendo da metodologia, reportam entre 4 e 41 % de assintomáticos (Byambasuren et al. 2020). Por outro lado, este resultado poderá encontrar-se sobreestimado por um viés de memória, nomeadamente, em relação a sintomas mais leves ou menos recentes.

A imunidade ao SARS-CoV-2, medida através da presença de anticorpos específicos para este vírus, é provável que se encontre subestimada no presente estudo, uma vez que não foi medida a imunidade celular, que também parece desempenhar um importante papel na resposta imunitária contra o SARS-CoV-2. Estudos anteriores sobre as infecções estreitamente relacionadas com os vírus MERS-CoV (Coronavírus da Síndrome Respiratória do Médio Oriente) e SARS-CoV-1 (Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave 1) sugerem uma resposta humoral relativamente efémera e uma resposta celular mais duradoura (Channappanavar et al. 2014; Zhao et al. 2017). Em particular, nos casos mais leves pode existir uma resposta das células T sem produção de anticorpos ou, noutros casos, a resposta humoral pode ser transitória, tendo já diminuído no momento em que a memória das células T ainda é robusta (Thieme et al. 2020; Gallais et al. 2020). Adicionalmente, células T CD4+ reativas para SARS-CoV-2 foram detetadas em 34 % de indivíduos seronegativos, embora em menor frequência do que nos seropositivos (Braun et al. 2020). No entanto, permanece por determinar se uma resposta robusta das células T de memória, na ausência de anticorpos circulantes detetáveis, pode conferir proteção contra o SARS-CoV-2.

Acresce que alguns estudos sugerem a possibilidade de existência de reatividade cruzada, pela memória imune preexistente de infecções anteriores causadas por outros coronavírus humanos. De facto, verificou-se que indivíduos nunca expostos ao SARS-CoV-2 podem apresentar anticorpos reativos cruzados para a nucleocapside ou a *pools* de peptídeos SARS-CoV-2 S, M e outros epítopos virais (Bert et al. 2020; Grifoni et al. 2020; Ng et al. 2020; Gallais et al. 2020). Desconhece-se, porém, até que ponto estas respostas imunitárias cruzadas protegem os indivíduos da infecção por SARS-CoV-2, à semelhança do que sucede para a imunidade celular.

De qualquer forma, os valores de seroprevalência estimados para a população Portuguesa no âmbito deste estudo, mesmo considerando a definição mais sensível, estão longe do valor necessário para alcançar a imunidade de grupo. Estimativas recentes apontam para a necessidade de uma seroprevalência entre 43 e 67 %, dependendo dos modelos matemáticos utilizados (Papachristodoulou et al. 2020; Rudolph e Barreiro 2020; Britton et al. 2020).

A interpretação destes resultados no sentido de uma proteção a nível individual e populacional revela-se ainda limitada, não sendo claro o grau de proteção e a respetiva duração conferidos pelos anticorpos específicos contra o SARS-CoV-2. Estudos recentes sugerem que a capacidade de ligação de IgM e IgG específicas contra SARS-CoV-2 diminui 20-30 dias após o início dos sintomas (Seow et al. 2020). Os títulos de anticorpos neutralizantes atingem o pico, em média, no dia 23 após o início dos sintomas e diminuem de 2 a 23 vezes durante um período de acompanhamento de 18 a 65 dias (Seow et al. 2020). Em indivíduos que desenvolvem baixos títulos de anticorpos após a infecção, estes tornam-se indetectáveis ou próximos do nível basal após aproximadamente 50 dias, destacando a natureza transitória da resposta dos anticorpos à infecção por SARS-CoV-2 (Seow et al. 2020). Considera-se, por isso, que devem ser mantidas as recomendações de proteção individual e coletiva para todos os indivíduos independentemente do seu nível de anticorpos específicos contra SARS-CoV-2 (Wiersinga et al. 2020; Pollán et al. 2020).

Os resultados agora apresentados podem considerar-se como uma linha de base da extensão da infecção na população Portuguesa, permitindo a sua monitorização ao longo do tempo, através da realização de uma série de estudos de prevalência.

Apesar das diferenças observadas em relação à prevalência de cada um dos anticorpos poderem indicar diferentes perfis serológicos, estas têm de ser interpretadas à luz das diferentes sensibilidades e especificidades dos testes disponíveis (La Marca et al. 2020), que num contexto de baixa prevalência, como o de Portugal, afetam a precisão das estimativas apresentadas,

sobretudo quando usadas definições mais sensíveis. Ainda assim, assumindo o impacto dos erros de medição, a interpretação dos resultados em termos de Saúde Pública não varia, indicando a reduzida exposição da população Portuguesa ao SARS-CoV-2.

Além do referido anteriormente, reconhecem-se como principais limitações do estudo a dificuldade em representar determinados grupos populacionais com diferentes riscos de exposição à infeção por SARS-CoV-2, que devem ser alvo de estudos específicos.

Em conclusão, neste primeiro ISN COVID-19 observou-se uma seroprevalência estimada superior à taxa de ataque reportada pelo sistema de vigilância nacional. Apesar disso, a extensão da infeção na população Portuguesa entre março e junho de 2020 foi limitada, e não foram encontradas diferenças significativas em relação aos grupos etários mais afetados. Verificou-se uma maior seroprevalência no grupo de pessoas com antecedentes compatíveis com COVID-19, embora seja de salientar que cerca de 44 % das pessoas com anticorpos específicos (IgM ou IgG) não reportaram qualquer sintomatologia. Tal indica que se possam tratar de infecções anteriores assintomáticas ou com sintomatologia leve que não foi valorizada, mas não é de excluir a possibilidade de viés de memória em relação a sintomas menos valorizados. Por último, importa referir que permanece a necessidade de monitorização da evolução da seroprevalência dos anticorpos específicos contra SARS-CoV-2 na população Portuguesa, cujos períodos de seguimento a serem selecionados se encontrarão dependentes da evolução da epidemia em Portugal.

6. Referências Bibliográficas

- Amorim Filho L, Landmann Szwarcwald C, De Oliveira S, Mateos G, Carlos A, Ponce De Leon M, De Andrade Medronho R, Gonçalves Veloso V, Iole J, Lopes F, Cristovão De Moraes L, Porto S, Chieppe A, Werneck GL, Hemorio De Pesquisa G, Covid-19 E, De L, Filho A, Rua H, Caneca F (2020) Seroprevalence of IgG and IgM anti-SARS-CoV-2 among voluntary blood donors in Rio de Janeiro, Brazil. SciELO Prepr
- Bendavid E, Mulaney B, Sood N, Shah S, Ling E, Bromley-Dulfano R, Lai C, Weissberg Z, Saavedra-Walker R, Tedrow J, Tversky D, Bogan A, Kupiec T, Eichner D, Gupta R, Ioannidis JPA, Bhattacharya J (2020) COVID-19 Antibody Seroprevalence in Santa Clara County, California. medRxiv. doi: 10.1101/2020.04.14.20062463
- Bert N Le, Tan AT, Kunasegaran K, Tham CYL, Hafezi M, Chia A, Chng M, Lin M, Tan N, Linster M, Chia WN, Chen MI, Wang L, Ooi EE, Kalimuddin S, Tambyah PA, Low JG-H, Tan Y-J, Bertoletti A (2020) Different pattern of pre-existing SARS-CoV-2 specific T cell immunity in SARS-recovered and uninfected individuals. bioRxiv. doi: 10.1101/2020.05.26.115832
- Bialek S, Gierke R, Hughes M, McNamara LA, Pilishvili T, Skoff T (2020) Coronavirus Disease 2019 in Children — United States, February 12–April 2, 2020. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 69:422–426 . doi: 10.15585/mmwr.mm6914e4
- Braun J, Loyal L, Frentsche M, Wendisch D, Georg P, Kurth F, Hippenstiel S, Dingeldey M, Kruse B, Fauchere F, Baysal E, Mangold M, Henze L, Lauster R, Mall M, Beyer K, Roehmel J, Schmitz J, Miltenyi S, Mueller MA, Witzenrath M, Suttorp N, Kern F, Reimer U, Wenschuh H, Drosten C, Corman VM, Giesecke-Thiel C, Sander L-E, Thiel A (2020) Presence of SARS-CoV-2 reactive T cells in COVID-19 patients and healthy donors. medRxiv 2020.04.17.20061440 . doi: 10.1101/2020.04.17.20061440
- Britton T, Ball F, Trapman P (2020) A mathematical model reveals the influence of population heterogeneity on herd immunity to SARS-CoV-2. Science. doi: 10.1126/science.abc6810
- Byambasuren O, Research P, Cardona M, Bell K, Clark J, McLaws L, Glasziou P (1101) Estimating the extent of asymptomatic COVID-19 and its potential for community transmission: systematic review and meta-analysis. medRxiv 2020.05.10.20097543 . doi: 10.1101/2020.05.10.20097543
- Channappanavar R, Zhao J, Perlman S (2014) T cell-mediated immune response to respiratory coronaviruses. Immunol Res 59:118–128

Charlton CL, Kanji JN, Johal K, Bailey A, Plitt SS, MacDonald C, Kunst A, Buss E, Burnes LE, Fonseca K, Berenger BM, Schnabl K, Hu J, Stokes W, Zelyas N, Tipples G (2020) Evaluation of six commercial mid to high volume antibody and six point of care lateral flow assays for detection of SARS-CoV-2 antibodies. *J Clin Microbiol.* doi: 10.1128/JCM.01361-20

Cheng MP, Yansouni CP, Basta NE, Desjardins M, Kanjilal S, Paquette K, Caya C, Semret M, Quach C, Libman M, Mazzola L, Sacks JA, Dittrich S, Papenburg J (2020) Serodiagnostics for Severe Acute Respiratory Syndrome-Related Coronavirus-2. *Ann Intern Med.* doi: 10.7326/m20-2854

Clapham H, Hay J, Routledge I, Takahashi S, Choisy M, Cummings D, Grenfell B, Metcalf CJ, Mina M, Barraquer IR, Salje H, Tam CC (2020) Seroepidemiologic Study Designs for Determining SARS-CoV-2 Transmission and Immunity. *Emerg Infect Dis* 26. doi: 10.3201/eid2609.201840

Direção-Geral da Saúde (2020) Novo Coronavírus (COVID-19) Relatório de Situação nº128. Lisboa

Dong Y, Mo X, Hu Y (2020) Epidemiological characteristics of 2143 pediatric patients with 2019 coronavirus disease in China. *Pediatrics.* doi: 10.1542/peds.2020-0702

Erikstrup C, Hother CE, Pedersen OBV, Mølbak K, Skov RL, Holm DK, Sækmose SG, Nilsson AC, Brooks PT, Boldsen JK, Mikkelsen C, Gybel-Brask M, Sørensen E, Dinh KM, Mikkelsen S, Møller BK, Haunstrup T, Harrithøj L, Jensen BA, Hjalgrim H, Lillevang ST, Ullum H (2020) Estimation of SARS-CoV-2 infection fatality rate by real-time antibody screening of blood donors. *Clin Infect Dis.* doi: 10.1093/cid/ciaa849

European Centre for Disease Prevention and Control (2020a) Rapid Risk Assessment: Coronavirus disease 2019 (COVID-19) in the EU/EEA and the UK – tenth update

European Centre for Disease Prevention and Control (2020b) Case definition for coronavirus disease 2019 (COVID-19), as of 29 May 2020. <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/surveillance/case-definition>. Accessed 29 Jul 2020

Fernández-Barat L, López-Aladid R, Torres A (2020) The value of serology testing to manage SARS-CoV-2 infections. *Eur Respir J.* doi: 10.1183/13993003.02411-2020

Fiore JR, Centra M, de Carlo A, Granato M, Rosa A, Sarno M, de Feo L, di Stefano M, D'Errico M, Lo Caputo S, de Nittis R, Arena F, Corso G, MARGAGLIONE M, Santantonio TA (2020) FAR AWAY FROM HERD IMMUNITY TO SARS-CoV-2: results from a survey in healthy blood donors in South Eastern Italy. *medRxiv* 2020.06.17.20133678 . doi: 10.1101/2020.06.17.20133678

Fontanet A, Grant R, Tondeur L, Madec Y, Grzelak L, Cailleau I, Ungeheuer M-N, Renaudat C, Pellerin SF, Kuhmel L, Staropoli I, Anna F, Charneau P, Demeret C, Bruel T, Schwartz O, Hoen B (2020) SARS-CoV-2 infection in primary schools in northern France: A retrospective cohort study in an area of high transmission. medRxiv 2020.06.25.20140178 . doi: 10.1101/2020.06.25.20140178

Gallais F, Velay A, Wendling M-J, Nazon C, Partisani M, Sibilia J, Candon S, Fafi-Kremer S (2020) Intrafamilial Exposure to SARS-CoV-2 Induces Cellular Immune Response without Seroconversion. medRxiv 2020.06.21.20132449 . doi: 10.1101/2020.06.21.20132449

Gomes CC, Cerutti C, Zandonade E, Maciel ELN, de Alencar FEC, Almada GL, Cardoso OA, Jabor PM, Zanotti RL, Reuter TQ, de Andrade VLG, Bastos WM, de Medeiros NF (2020) A population-based study of the prevalence of COVID-19 infection in Espírito Santo, Brazil: methodology and results of the first stage. medRxiv 2020.06.13.20130559 . doi: 10.1101/2020.06.13.20130559

Gorbalenya AE, Baker SC, Baric RS, de Groot RJ, Drosten C, Gulyaeva AA, Haagmans BL, Lauber C, Leontovich AM, Neuman BW, Penzar D, Perlman S, Poon LLM, Samborskiy D V., Sidorov IA, Sola I, Ziebuhr J (2020) The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. Nat Microbiol 5:536–544

Grifoni A, Weiskopf D, Ramirez SI, Mateus J, Dan JM, Moderbacher CR, Rawlings SA, Sutherland A, Premkumar L, Jadi RS, Marrama D, de Silva AM, Frazier A, Carlin AF, Greenbaum JA, Peters B, Krammer F, Smith DM, Crotty S, Sette A (2020) Targets of T Cell Responses to SARS-CoV-2 Coronavirus in Humans with COVID-19 Disease and Unexposed Individuals. Cell 1489–1501 . doi: 10.1016/j.cell.2020.05.015

Hallal P, Hartwig F, Horta B, Victora GD, Silveira M, Struchiner C, Vidaletti LP, Neumann N, Pellanda LC, Dellagostin OA, Burattini MN, Menezes AM, Barros FC, Barros AJ, Victora CG (2020) Remarkable variability in SARS-CoV-2 antibodies across Brazilian regions: nationwide serological household survey in 27 states. medRxiv 2020.05.30.20117531. doi: 10.1101/2020.05.30.20117531

Havers FP, Reed C, Lim T, Montgomery JM, Klena JD, Hall AJ, Fry AM, Cannon DL, Chiang C-F, Gibbons A, Kapiunaya I, Morales-Betouille M, Roguski K, Rasheed M, Freeman B, Lester S, Mills L, Carroll DS, Owen SM, Johnson JA, Semenova V, Schiffer J, Thornburg N (2020) Title: Seroprevalence of Antibodies to SARS-CoV-2 in Six Sites in the United States, State Collaborator Group 2. medRxiv 2020.06.25.20140384. doi: 10.1101/2020.06.25.20140384

Huang AT, Garcia-Carreras B, Hitchings MDT, Yang B, Katzelnick L, Rattigan SM, Borgert B, Moreno C, Solomon BD, Rodriguez-Barraquer I, Lessler J, Salje H, Burke DS, Wesolowski A, Cummings DAT (2020a) A systematic review of antibody mediated immunity to coronaviruses: antibody kinetics, correlates of protection, and association of antibody responses with severity of disease. medRxiv 2020.04.14.20065771 . doi: 10.1101/2020.04.14.20065771

Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, Zhang L, Fan G, Xu J, Gu X, Cheng Z, Yu T, Xia J, Wei Y, Wu W, Xie X, Yin W, Li H, Liu M, Xiao Y, Gao H, Guo L, Xie J, Wang G, Jiang R, Gao Z, Jin Q, Wang J, Cao B (2020b) Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. Lancet 395:497–506 . doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5

Instituto Nacional de Estatística (2019) Estimativas anuais da população residente. https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_indicadores&contecto=pi&indOcorrCod=0008273&selTab=tab0. Accessed 28 Jul 2020

Jerković I, Ljubić T, Bašić Ž, Kružić I, Kunac N, Bezić J, Vuko A, Markotić A, Andelinović Š (2020) SARS-CoV-2 antibody seroprevalence in industry workers in Split-Dalmatia and Šibenik-Knin County, Croatia. medRxiv. doi: 10.1101/2020.05.11.20095158

La Marca A, Capuzzo M, Paglia T, Roli L, Trenti T, Nelson SM (2020) Testing for SARS-CoV-2 (COVID-19): a systematic review and clinical guide to molecular and serological in-vitro diagnostic assays. Reprod Biomed Online

Li Q, Guan X, Wu P, Wang X, Zhou L, Tong Y, Ren R, Leung KSM, Lau EHY, Wong JY, Xing X, Xiang N, Wu Y, Li C, Chen Q, Li D, Liu T, Zhao J, Liu M, Tu W, Chen C, Jin L, Yang R, Wang Q, Zhou S, Wang R, Liu H, Luo Y, Liu Y, Shao G, Li H, Tao Z, Yang Y, Deng Z, Liu B, Ma Z, Zhang Y, Shi G, Lam TTY, Wu JT, Gao GF, Cowling BJ, Yang B, Leung GM, Feng Z (2020) Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia. N Engl J Med 382:1199–1207. doi: 10.1056/NEJMoa2001316

McArthur L, Sakthivel D, Ataide R, Chan F, Richards JS, Narh CA (2020) Review of Burden, Clinical Definitions, and Management of COVID-19 Cases. Am J Trop Med Hyg. doi: 10.4269/ajtmh.20-0564

Ng D, Goldgof G, Shy B, Levine A, Balceruk J, Bapat SP, Prostko J, Rodgers M, Coller K, Pearce S, Franz S, Du L, Stone M, Pillai S, Sotomayor-Gonzalez A, Servellita V, Sanchez-San Martin C, Granados A, Glasner DR, Han LM, Truong K, Akagi N, Nguyen DN, Neumann N, Qazi D, Hsu E, Gu W, Santos YA, Custer B, Green V, Williamson P, Hills NK, Lu CM, Whitman JD,

- Stramer S, Wang C, Reyes K, Hakim J, Sujishi K, Alazze F, Pharm L, Oon C-Y, Miller S, Kurtz T, Hackett J, Simmons G, Busch MP, Chiu CY (2020) SARS-CoV-2 seroprevalence and neutralizing activity in donor and patient blood from the San Francisco Bay Area. *medRxiv Prepr Serv Heal Sci* 2020.05.19.20107482. doi: 10.1101/2020.05.19.20107482
- Ni L, Ye F, Cheng ML, Feng Y, Deng YQ, Zhao H, Wei P, Ge J, Gou M, Li X, Sun L, Cao T, Wang P, Zhou C, Zhang R, Liang P, Guo H, Wang X, Qin CF, Chen F, Dong C (2020) Detection of SARS-CoV-2-Specific Humoral and Cellular Immunity in COVID-19 Convalescent Individuals. *Immunity* 52: . doi: 10.1016/j.jimmuni.2020.04.023
- Nunes B, Caetano C, Antunes L, Rodrigues A, Dias C (2020) Evolução do número de casos de COVID-19 em Portugal: relatório de nowcasting e forecasting. Departamento de Epidemiologia. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa
- Palminha P, Moura S, Nunes B, Pádua E, Cortes-Martins H, Borrego M, Bajanca-Lavado P, Matos R (2017) Inquérito Serológico Nacional 2015-2016. Doenças Evitáveis por Vacinação. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa
- Papachristodoulou E, Kakoullis L, Parperis K, Panos G (2020) Long-term and herd immunity against SARS-CoV-2: implications from current and past knowledge. *Pathog Dis* 78:25. doi: 10.1093/femspd/ftaa025
- Perlman S, Netland J (2009) Coronaviruses post-SARS: Update on replication and pathogenesis. *Nat Rev Microbiol* 7:439–450
- Petersen E, Koopmans M, Go U, Hamer DH, Petrosillo N, Castelli F, Storgaard M, Al Khalili S, Simonsen L (2020) Comparing SARS-CoV-2 with SARS-CoV and influenza pandemics. *Lancet Infect Dis*
- Pollán M, Pérez-Gómez B, Pastor-Barriuso R, Oteo J, Hernán MA, Pérez-Olmeda M, Sanmartín JL, Fernández-García A, Cruz I, Fernández de Larrea N, Molina M, Rodríguez-Cabrera F, Martín M, Merino-Amador P, León Paniagua J, Muñoz-Montalvo JF, Blanco F, Yotti R, ENE-COVID Study Group (2020) Prevalence of SARS-CoV-2 in Spain (ENE-COVID): a nationwide, population-based seroepidemiological study. *Lancet* (London, England). doi: 10.1016/S0140-6736(20)31483-5
- Qiu H, Wu J, Hong L, Luo Y, Song Q, Chen D (2020) Clinical and epidemiological features of 36 children with coronavirus disease 2019 (COVID-19) in Zhejiang, China: an observational cohort study. *Lancet Infect Dis* 20:689–696. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30198-5
- Randolph HE, Barreiro LB (2020) Herd Immunity: Understanding COVID-19. *Immunity* 52:737–741

Rao JNK, Scott AJ (1984) On chi-squared tests for multiway contingency tables with cell proportions estimated from survey data. Ann Statist 12(1):46–60.

Ren LL, Wang YM, Wu ZQ, Xiang ZC, Guo L, Xu T, Jiang YZ, Xiong Y, Li YJ, Li XW, Li H, Fan GH, Gu XY, Xiao Y, Gao H, Xu JY, Yang F, Wang XM, Wu C, Chen L, Liu YW, Liu B, Yang J, Wang XR, Dong J, Li L, Huang CL, Zhao JP, Hu Y, Cheng ZS, Liu LL, Qian ZH, Qin C, Jin Q, Cao B, Wang JW (2020) Identification of a novel coronavirus causing severe pneumonia in human: a descriptive study. Chin Med J (Engl) 133:1015–1024. doi: 10.1097/CM9.0000000000000722

Rosenberg ES, Tesoriero JM, Rosenthal EM, Chung R, Barranco MA, Styler LM, Parker MM, John Leung S-Y, Morne JE, Greene D, Holtgrave DR, Hoefer D, Kumar J, Udo T, Hutton B, Zucker HA, Leung JS (2020) Cumulative incidence and diagnosis of SARS-CoV-2 infection in New York. Ann Epidemiol. doi: 10.1016/j.annepidem.2020.06.004

Salje H, Tran Kiem C, Lefrancq N, Courtejoie N, Bosetti P, Paireau J, Andronico A, Hozé N, Richet J, Dubost C-L, Le Strat Y, Lessler J, Levy-Bruhl D, Fontanet A, Opatowski L, Boelle P-Y, Cauchemez S (2020) Estimating the burden of SARS-CoV-2 in France. Science (80-) eabc3517 . doi: 10.1101/2020.04.20.20072413

Seow J, Graham C, Merrick B, Acors S, Steel KJA, Hemmings O, O'Bryne A, Kouphou N, Pickering S, Galao R, Betancor G, Wilson HD, Signell AW, Winstone H, Kerridge C, Temperton N, Snell L, Bisnauthsing K, Moore A, Green A, Martinez L, Stokes B, Honey J, Izquierdo-Barras A, Arbane G, Patel A, OConnell L, O'Hara G, MacMahon E, Douthwaite S, Nebbia G, Batra R, Martinez-Nunez R, Edgeworth JD, Neil SJD, Malim MH, Doores K (2020) Longitudinal evaluation and decline of antibody responses in SARS-CoV-2 infection. medRxiv 2020.07.09.20148429 . doi: 10.1101/2020.07.09.20148429

Shakiba M, Nazari S, Mehrabian F, Rezvani S, Ghasempour Z, Heidarzadeh A (2020) Seroprevalence of COVID-19 virus infection in Guilan province, Iran. medRxiv

Slot E, Hogema BM, Reusken C, Reimerink JH, Molier M, Karregat J, Ijlst J, Novotny V, van Lier R, Zaaijer H (2020) Herd immunity is not a realistic exit strategy during a COVID-19 outbreak. Res Sq

Snoeck CJ, Vaillant M, Abdelrahman T, Satagopam VP, Turner JD, Beaumont K, Gomes CPC, Fritz JV, Schröder VE, Kaysen A, Pavelka L, Stute L, Meyers GR, Pauly L, Hansen M, Pauly C, Aguayo GA, Perquin M, Hanff A-M, Ghosh S, Gantenbein M, Huiart L, Ollert M, Krüger R (2020) Prevalence of SARS-CoV-2 infection in the Luxembourgish population the CON-VINCE study. medrxiv 2020.05.11.20092916 . doi: 10.1101/2020.05.11.20092916

- Song H, Seddighzadeh B, Cooperberg MR, Huang FW (2020) Expression of ACE2, the SARS-CoV-2 Receptor, and TMPRSS2 in Prostate Epithelial Cells. *Eur Urol* 78:296
- Sood N, Simon P, Ebner P, Eichner D, Reynolds J, Bendavid E, Bhattacharya J (2020) Seroprevalence of SARS-CoV-2-Specific Antibodies among Adults in Los Angeles County, California, on April 10-11, 2020. *JAMA*
- StataCorp (2017) Stata Statistical Software: Release 15
- Stringhini S, Wisniak A, Piumatti G, Azman AS, Lauer SA, Baysson H, De Ridder D, Petrovic D, Schrempt S, Marcus K, Yerly S, Arm Vernez I, Keiser O, Hurst S, Posfay-Barbe KM, Trono D, Pittet D, Gétaz L, Chappuis F, Eckerle I, Vuilleumier N, Meyer B, Flahault A, Kaiser L, Guessous I (2020) Seroprevalence of anti-SARS-CoV-2 IgG antibodies in Geneva, Switzerland (SEROCoV-POP): a population-based study. *Lancet*. doi: 10.1016/S0140-6736(20)31304-0
- Tess BH, Granato CFH, Alves MCGP, Pintao MC, Rizzatti E, Nunes MC, Reinach FC (2020) SARS-CoV-2 seroprevalence in the municipality of Sao Paulo, Brazil, ten weeks after the first reported case. *medRxiv* 2020.06.29.20142331. doi: 10.1101/2020.06.29.20142331
- Thieme CJ, Anft M, Paniskaki K, Blazquez-Navarro A, Doevelaar A, Seibert FS, Hoelzer B, Konik MJ, Brenner T, Tempfer C, Watzl C, Dolff S, Dittmer U, Westhoff TH, Witzke O, Stervbo U, Roch T, Babel N (2020) The SARS-CoV-2 T-cell immunity is directed against the spike, membrane, and nucleocapsid protein and associated with COVID 19 severity. *medRxiv* 2020.05.13.20100636 . doi: 10.1101/2020.05.13.20100636
- Tian H, Bjornstad ON (2020) Population serology for SARS-CoV-2 is essential to regional and global preparedness. *The Lancet Microbe*. doi: 10.1016/s2666-5247(20)30055-0
- Valenti L, Bergna A, Pelusi S, Facciotti F, Lai A, Tarkowski M, Berzuini A, Caprioli F, Santoro L, Baselli G, Della Ventura C, Erba E, Bosari S, Galli M, Zehender G, Prati D (2020) SARS-CoV-2 seroprevalence trends in healthy blood donors during the COVID-19 Milan outbreak. *medRxiv* 2020.05.11.20098442 . doi: 10.1101/2020.05.11.20098442
- Wang Y, Wang Y, Chen Y, Qin Q (2020) Unique epidemiological and clinical features of the emerging 2019 novel coronavirus pneumonia (COVID-19) implicate special control measures. *J Med Virol* 92:568–576
- Wiersinga WJ, Rhodes A, Cheng AC, Peacock SJ, Prescott HC (2020) Pathophysiology, Transmission, Diagnosis, and Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review. *JAMA*
- World Health Organization (2020a) Novel Coronavirus(2019-nCoV) Situation Report 11. Geneva

World Health Organization (2020b) Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Situation Report 51.

Geneva

Wu F, Zhao S, Yu B, Chen Y-M, Wang W, Hu Y, Song Z-G, Tao Z-W, Tian J-H, Pei Y-Y, Yuan M-L,

Zhang Y-L, Dai F-H, Liu Y, Wang Q-M, Zheng J-J, Xu L, Holmes EC, Zhang Y-Z (2020a)

Complete genome characterisation of a novel coronavirus associated with severe human respiratory disease in Wuhan, China. bioRxiv 2020.01.24.919183. doi:

10.1101/2020.01.24.919183

Wu X, Fu B, Chen L, Feng Y (2020b) Serological tests facilitate identification of asymptomatic

SARS-CoV-2 infection in Wuhan, China. J Med Virol 0–3 . doi: 10.1002/jmv.25904

Xu X, Sun J, Nie S, Li H, Kong Y, Liang M, Hou J, Huang X, Li D, Ma T, Peng J, Gao S, Shao Y, Zhu

H, Lau JY-N, Wang G, Xie C, Jiang L, Huang A, Yang Z, Zhang K, Hou FF (2020)

Seroprevalence of immunoglobulin M and G antibodies against SARS-CoV-2 in China. Nat

Med. doi: 10.1038/s41591-020-0949-6

Zhao J, Alshukairi AN, Baharoon SA, Ahmed WA, Bokhari AA, Nehdi AM, Layqah LA, Alghamdi

MG, Al Gethamy MM, Dada AM, Khalid I, Boujelal M, Al Johani SM, Vogel L, Subbarao K,

Mangalam A, Wu C, Eyck P Ten, Perlman S, Zhao J (2017) Recovery from the Middle East

respiratory syndrome is associated with antibody and T cell responses. Sci Immunol 2:5393 .

doi: 10.1126/sciimmunol.aan5393

Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, Zhao X, Huang B, Shi W, Lu R, Niu P, Zhan F, Ma

X, Wang D, Xu W, Wu G, Gao GF, Tan W (2020) A novel coronavirus from patients with

pneumonia in China, 2019. N Engl J Med 382:727–733 . doi: 10.1056/NEJMoa2001017

7. Anexos

Anexo 1

Quadro 1 A. Alocação da amostra sobredimensionada por grupo etário, NUTS III e Região de Saúde

Região de Saúde	NUT III	1-9	10 -19	20-59	≥ 60	Total NUT III	Total
Norte	Alto Minho	4	4	7	6	21	
	Alto Tâmega	2	2	4	4	12	
	Ave	8	8	13	11	40	
	Cávado	8	9	13	10	40	
	Douro	4	4	6	7	21	347
	Terras de Trás-os-Montes	2	2	4	5	13	
	Tâmega e Sousa	8	10	13	9	40	
Centro	AM do Porto	34	32	48	46	160	
	Beira Baixa	4	4	5	6	19	
	Beiras e Serra da Estrela	8	8	13	15	44	
	Médio Tejo	2	3	2	2	9	
	Região de Aveiro	17	16	20	19	72	345
	Região de Coimbra	18	18	27	26	89	
	Região de Leiria	13	12	17	16	58	
LVT	Viseu Dão Lafões	10	12	16	16	54	
	Lezíria do Tejo	4	6	7	8	25	
	Médio Tejo	4	4	6	8	22	
	Oeste	6	8	11	10	35	340
Alentejo	AM de Lisboa	55	51	77	75	258	
	Alentejo Litoral	14	14	20	21	69	
	Alto Alentejo	14	16	23	24	77	
	Alentejo Central	23	21	33	33	110	343
Algarve	Baixo Alentejo	18	18	26	25	87	
	Algarve I	35	35	53	49	172	
	Algarve II	24	24	38	38	124	340
Açores	Algarve III	8	8	14	14	44	
	Grupo Oriental	36	38	65	50	189	
	Grupo Central	27	26	39	48	140	340
Madeira	Grupo Ocidental	2	2	4	3	11	
	Madeira I	23	23	47	53	146	
	Madeira II	10	10	20	14	54	343
Total	Madeira III	27	27	44	45	142	
		472	475	735	716		2.398

AM: Área Metropolitana; LVT: Lisboa e Vale do Tejo

Anexo 2

Inquérito Serológico Nacional COVID-19

Informação demográfica

1. Data de colheita da amostra

--	--	--	--	--	--	--

(dd / mm / aaaa)

2. Sexo Masculino Feminino Outro**3. Data de Nascimento**

--	--	--	--	--	--	--

(dd / mm / aaaa)

4. Idade (anos)

--	--

(Apenas se não souber data de nascimento)

5. Concelho de residência

--

6. Qual o ano mais elevado de escolaridade que completou ou ao qual obteve equivalência?

(Considere o último concluído com aproveitamento. No caso de não saber qual a opção mais correta selecione "Outra situação" e descreva).

- Nenhum, 1, 2, 3º ano completos
- 4º ou 5º ano completos
- 6º ou 7º ou 8º ano completos
- 9º ou 10º ou 11º ano completos
- Ensino secundário (12º ano, cursos gerais, tecnológicos ou profissionais)
- Ensino pós-secundário não superior (Cursos Especialização Tecnológica)
- Ensino superior (licenciatura, mestrado, doutoramento)
- Outra situação. Especifique

7. Relativamente à ocupação, atualmente em que situação se encontra?

- | | |
|---|---|
| <input type="radio"/> Tem um trabalho/emprego | <input type="radio"/> Ocupa-se de tarefas domésticas |
| <input type="radio"/> Desempregado | <input type="radio"/> Presta serviço comunitário ou é cuidador informal |
| <input type="radio"/> Estudante, em formação | <input type="radio"/> Incapacitado permanentemente |
| <input type="radio"/> Reformado | <input type="radio"/> Outra situação de inatividade |

(Trabalho renumerado inclui trabalho não remunerado numa atividade ou empresa familiar, estágio pago, licença de maternidade, baixa médica por doença, férias, lay-off ou bolsa de investigação)

8. Caso tenha atualmente um trabalho/emprego, qual é a sua profissão principal?

--

Antecedentes - Doenças crónicas**Tem alguma destas doenças crónicas?****Diabetes** Sim Não Não sabe**Doença cardiovascular** Sim Não Não sabe**Hipertensão (tensão arterial alta)** Sim Não Não sabe**Doença pulmonar crónica
(exclui asma)** Sim Não Não sabe**Asma** Sim Não Não sabe**Obesidade** Sim Não Não sabe**Doença auto-imune** Sim Não Não sabe**Outra(s) doença(s). Quais?****Antecedentes - COVID19****Teve contacto com algum caso suspeito ou confirmado de COVID-19?** Sim Não Desconhece**Se respondeu Sim, indique a data do último contacto**

		/				/					
--	--	---	--	--	--	---	--	--	--	--	--

(dd / mm / aaaa)

Fez algum teste para deteção de COVID-19? Sim Não Desconhece**Se sim, o resultado do teste foi?** Positivo Negativo Inconclusivo Desconhece**Se teve algum resultado positivo, indique a data do primeiro teste positivo**

		/				/					
--	--	---	--	--	--	---	--	--	--	--	--

(dd / mm / aaaa)

Queixas

Teve alguma destas queixas desde o início de março?

- | | | | |
|--|---------------------------|---------------------------|--------------------------------------|
| Febre ($\geq 38^{\circ}\text{C}$) ou história de febre | <input type="radio"/> Sim | <input type="radio"/> Não | <input type="radio"/> Não se recorda |
| Arrepios | <input type="radio"/> Sim | <input type="radio"/> Não | <input type="radio"/> Não se recorda |
| Fadiga (cansaço) | <input type="radio"/> Sim | <input type="radio"/> Não | <input type="radio"/> Não se recorda |
| Dores musculares | <input type="radio"/> Sim | <input type="radio"/> Não | <input type="radio"/> Não se recorda |
| Dores articulares | <input type="radio"/> Sim | <input type="radio"/> Não | <input type="radio"/> Não se recorda |
| Dor de garganta | <input type="radio"/> Sim | <input type="radio"/> Não | <input type="radio"/> Não se recorda |
| Tosse | <input type="radio"/> Sim | <input type="radio"/> Não | <input type="radio"/> Não se recorda |
| Nariz congestionado ou corrimento nasal | <input type="radio"/> Sim | <input type="radio"/> Não | <input type="radio"/> Não se recorda |
| Falta de ar (dificuldade respiratória) | <input type="radio"/> Sim | <input type="radio"/> Não | <input type="radio"/> Não se recorda |
| Pieira | <input type="radio"/> Sim | <input type="radio"/> Não | <input type="radio"/> Não se recorda |
| Dor torácica | <input type="radio"/> Sim | <input type="radio"/> Não | <input type="radio"/> Não se recorda |
| Outras queixas respiratórias | <input type="radio"/> Sim | <input type="radio"/> Não | <input type="radio"/> Não se recorda |
| Conjuntivite | <input type="radio"/> Sim | <input type="radio"/> Não | <input type="radio"/> Não se recorda |
| Dor de cabeça | <input type="radio"/> Sim | <input type="radio"/> Não | <input type="radio"/> Não se recorda |
| Alterações do estado de consciência | <input type="radio"/> Sim | <input type="radio"/> Não | <input type="radio"/> Não se recorda |
| Convulsões | <input type="radio"/> Sim | <input type="radio"/> Não | <input type="radio"/> Não se recorda |
| Outras queixas neurológicas | <input type="radio"/> Sim | <input type="radio"/> Não | <input type="radio"/> Não se recorda |
| Náusea ou vômitos | <input type="radio"/> Sim | <input type="radio"/> Não | <input type="radio"/> Não se recorda |
| Diarreia | <input type="radio"/> Sim | <input type="radio"/> Não | <input type="radio"/> Não se recorda |
| Dor abdominal | <input type="radio"/> Sim | <input type="radio"/> Não | <input type="radio"/> Não se recorda |
| Perda de cheiro | <input type="radio"/> Sim | <input type="radio"/> Não | <input type="radio"/> Não se recorda |
| Perda de paladar | <input type="radio"/> Sim | <input type="radio"/> Não | <input type="radio"/> Não se recorda |
| Perda de apetite | <input type="radio"/> Sim | <input type="radio"/> Não | <input type="radio"/> Não se recorda |
| Hemorragia nasal | <input type="radio"/> Sim | <input type="radio"/> Não | <input type="radio"/> Não se recorda |

Outras queixas

-
- | | | | |
|--|---------------------------|---------------------------|--------------------------------------|
| Alguma destas queixas o levou a procurar cuidados médicos? | <input type="radio"/> Sim | <input type="radio"/> Não | <input type="radio"/> Não se recorda |
| Alguma destas queixas o fez faltar ao trabalho ou à escola? | <input type="radio"/> Sim | <input type="radio"/> Não | <input type="radio"/> Não se recorda |
| Alguma destas queixas levou a que fosse internado? | <input type="radio"/> Sim | <input type="radio"/> Não | <input type="radio"/> Não se recorda |

Anexo 3

Para a deteção de anticorpos específicos contra SARS-CoV-2 foram avaliados 6 procedimentos laboratoriais para a deteção de imunoglobulinas de três tipos, IgA, IgM, IgG bem como de anticorpos totais.

Para a avaliação do desempenho dos procedimentos laboratoriais foram testados soros de conveniência anonimizados, obtidos de doentes com amostras respiratórias positivas e negativas para a deteção do SARS-CoV-2, amostras de soro com diferentes datas de colheita desde o início dos sintomas e amostras provenientes de indivíduos de diferentes populações (população em geral, profissionais de saúde, doentes hospitalizados e em ambulatório). Não foram incluídos soros de crianças na avaliação dos testes por não estarem disponíveis à data da realização dos ensaios.

Os kits e procedimentos para a deteção de anticorpos específicos para o SARS-CoV-2 foram avaliados de acordo com o resultado esperado para cada um dos soros, tendo em conta a determinação da pesquisa do SARS-CoV-2 em amostras respiratórias, a data da colheita ou pesquisa de anticorpos específicos contra SARS-CoV-2.

Os resultados para a presença de anticorpos foram determinados como *positivo*, *inconclusivo* ou *negativo* de acordo com as especificações dos testes e recomendações do fabricante. Para os resultados validados e determinados por cada um dos kits ensaiados, foram calculadas a sensibilidade e especificidade e respectivos IC 95.

No Quadro 2A são apresentados os valores de sensibilidade e especificidade de cada um dos testes usados no ISN COVID-19.

Quadro 2A. Valores de sensibilidade e especificidade dos testes usados no primeiro ISN COVID-19

	IgA	IgM	IgG	Ac totais
Sensibilidade (IC 95)	100,0 % (84,5 – 100,0)	92,3 % (66,7 – 98,6)	100,0 % (82,4 – 100,0)	94,1 % (73,0 - 99,0)
Especificidade (IC 95)	97,9 % (92,7 - 99,4) *	98,7 % (92,9 – 99,8)	100,0 % (96,4 – 100,0) *	100,0 % (94,9 – 100,0)

*Os resultados inconclusivos não foram considerados.

Anexo 4

Quadro 3A. Seroprevalência (IgM ou IgG específicas contra SARS-CoV-2) em indivíduos com mais de 19 anos de idade por sexo e nível de escolaridade no ISN COVID-19

	Total (n=1.512)		Homens (n=664)		Mulheres (n=848)	
	%*	(IC 95)	%*	(IC 95)	%*	(IC 95)
Nenhum/1º ciclo do básico	3,0	(1,3-7,0)	4,7	(1,6-12,8)	1,6	(0,4-6,7)
2º ou 3º ciclo do básico	1,7	(0,6-4,5)	0,9	(0,4-2,3)	2,6	(0,7-9,5)
Secundário	6,4	(3,2-12,5)	9,9	(4,5-20,5)	3,0	(0,7-11,8)
Superior	1,4	(0,6-3,4)	2,1	(0,7-6,4)	1,0	(0,25-4,0)

*Percentagem ponderada para a distribuição da população residente em Portugal em 2019 por região, sexo e grupo etário

Quadro 4A. Seroprevalência IgM, IgG ou IgM e IgG específicas contra SARS-CoV-2 padronizadas por sexo e grupo etário para região, escolaridade e situação perante o trabalho no ISN COVID-19

	IgM		IgG		IgM ou IgG	
	%*	(IC 95)	%*	(IC 95)	%*	(IC 95)
Região						
Norte	2,2	(0,8-5,5)	2,1	(0,9-5,0)	2,8	(1,3-6,0)
Centro	2,2	(1,0-4,9)	1,0	(0,3-3,3)	2,6	(1,3-5,4)
Lisboa e Vale do Tejo	1,6	(0,6-4,1)	2,7	(1,4-5,2)	3,6	(1,9-6,4)
Alentejo	1,0	(0,2-4,1)	0,9	(0,2-4,0)	1,2	(0,3-4,1)
Algarve	2,1	(0,9-4,9)	0,1	(0,0-0,9)	2,2	(1,0-4,9)
Madeira	1,1	(0,4-2,8)	0,5	(0,1-2,3)	1,6	(0,7-3,6)
Açores	0,5	(0,1-2,2)	2,3	(1,1-4,7)	2,5	(1,3-4,8)
Escolaridade**						
Nenhum/1º ciclo do básico	2,2	(0,5-9,4)	0,6	(0,2-2,0)	2,8	(0,9 - 9,0)
2º ou 3º ciclo do básico	1,9	(0,5-7,1)	0,6	(0,2-2,3)	2,0	(0,6 – 7,0)
Secundário	5,0	(2,2-10,8)	5,5	(2,5-11,5)	6,5	(3,3 – 12,4)
Superior	0,9	(0,3-2,9)	1,6	(0,4-5,6)	2,4	(0,9 – 6,1)
Situação perante o trabalho**						
Empregado	3,0	(1,5-6,1)	3,6	(1,7-7,5)	4,8	(2,7 – 8,7)
Outra situação	1,1	(0,3-4,4)	0,6	(0,2-1,5)	1,7	(0,6 – 4,4)

*Percentagem ponderada para a distribuição da população residente em Portugal em 2019 por região, sexo e grupo etário. ** Apenas para maiores de 19 anos.

Quadro 5A. Coeficientes de correlação de Pearson entre a taxa de incidência acumulada de COVID-19 por região e as seroprevalências de anticorpos específicos contra SARS-CoV-2

	R
IgM ou IgG	0,8
IgM ou IgG ou Ac totais	0,8
> 2 positivos (IgM, IgG, Ac totais)	0,6

