

O Papel dos testes Serológicos para deteção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte



Paula Maria da Silva Carvalho

O Papel dos testes Serológicos para deteção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

Faculdade Ciências da Saúde

Porto, 2021

O Papel dos testes Serológicos para deteção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

O Papel dos testes Serológicos para deteção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte



Paula Maria da Silva Carvalho

O Papel dos testes Serológicos para deteção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

Faculdade Ciências da Saúde

Porto, 2021

O Papel dos testes Serológicos para deteção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

O Papel dos testes Serológicos para deteção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

Paula Carvalho

O Papel dos testes Serológicos para deteção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

Trabalho apresentado à universidade Fernando Pessoa
como parte dos requisitos para obtenção
de grau de mestre em Ciências Farmacêuticas

O Papel dos testes Serológicos para deteção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

Resumo

O vírus SARS-CoV-2 identificado em humanos em 2019, na China, provocou uma pandemia mundial a COVID-19, decretada pela Organização Mundial de Saúde em Março de 2020. Nas características deste Coronavírus destacam-se a elevada transmissibilidade por gotículas respiratórias e fómites e os sintomas podem variar de leves a moderados ou ser tão graves que podem mesmo levar à morte. As medidas de prevenção adotadas mundialmente foram decisivas no controle da pandemia enquanto não se desenvolveram vacinas e medicamentos antivirais eficazes. O distanciamento social, o uso de máscaras faciais e as desinfecções de superfícies incluíram-se num conjunto de restrições que levaram ao confinamento geral ou ao chamado “lockdown”.

Os Testes serológicos para deteção de IgM e IgG são de grande importância na monitorização da imunidade ao SARS-Cov-2 assim como na vigilância dos portadores assintomáticos. Ainda antes da disponibilização das vacinas estes testes, devido ao seu baixo custo, comparativamente ao teste de antigénio, eram amplamente utilizados no contexto de estudos epidemiológicos não só para avaliação da resposta imune como também para a deteção de infeção.

Neste trabalho foram realizados testes serológicos entre Janeiro e Março de 2021- período de confinamento, numa Farmácia em Santo Tirso – Norte de Portugal, para avaliar a presença de anticorpos IgM e IgG ao SARS-CoV-2. Os testes foram acompanhados de um questionário, caracterizando os participantes e identificando fatores de risco. Nos resultados obtidos destacam-se uma seroprevalência de 41,3% maioritariamente nos indivíduos em trabalho presencial (74%). Ainda assim apenas 44% dos indivíduos apresentaram sintomatologia e /ou um teste antigénico positivo sublinhando a importância da transmissão viral a partir dos indivíduos assintomáticos. A seroprevalência foi maior nas mulheres e em indivíduos com idades superiores a 21 anos.

É um facto que no período estudado as medidas de restrição foram importantes para o controle da disseminação do vírus e mesmo as pessoas infetadas apresentaram seroconversão apesar de ainda ser desconhecido a longevidade desta resposta. A posterior introdução das vacinas permitiu um aliviar das medidas de confinamento, no entanto os estudos serológicos continuam a permitir a monitorização da imunidade populacional, nomeadamente contra as novas variantes virais.

O Papel dos testes Serológicos para deteção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

Palavras-chave

Infeção por SARS-CoV-2, Seroprevalência, Portugal, Testes Serológicos, Saúde Pública, Resposta de anticorpos, COVID-19

Esta dissertação baseou-se num trabalho prático original que resultou num artigo, publicado na Revista Científica “*International Journal of Research in Medical Sciences*”:

Carvalho, Paula M.; Soares, Sandra C. and Castro, Ana R. (2021) What did we learn after the 2020 pandemic? Seroprevalence of SARS-CoV-2 Infection in a north region of Portugal during 3rd lockdown. International Journal of Research in Medical Sciences. Vol 9, issue 9 2568-2572. (ANEXO 1)

O Papel dos testes Serológicos para deteção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

Abstract

The SARS-CoV-2 virus identified in humans in 2019 in China triggered a global pandemic, the COVID-19, has stated by the World Health Organization in March 2020. In the characteristics of this Coronavirus stand out the high transmissibility by respiratory droplets and breath and the symptoms can range from mild to moderate or be so severe that can even lead to death. The prevention measures adopted worldwide were decisive in controlling the pandemic while effective vaccines and antiviral drugs were not developed. Social distancing, the use of face masks and surface disinfection were among the restrictions that led to general containment or lockdown.

Serological tests for IgM and IgG detection are of great importance in monitoring immunity to SARS-Cov-2 as well as in the surveillance of asymptomatic carriers. Even before the availability of vaccines these tests, due to their low cost compared to antigen testing, were widely used in the context of epidemiological studies not only for evaluation of immune response but also for detection of infection.

In this study, serological tests were carried out between January and March 2021 - confinement period, in a Pharmacy in Santo Tirso - Northern Portugal, to assess the presence of IgM and IgG antibodies to SARS-CoV-2. The tests were accompanied by a questionnaire, characterizing the participants and identifying risk factors. The results obtained showed a seroprevalence of 41.3%, mostly in individuals working presencially (74%). Even so, only 44% of the individuals presented symptoms and/or a positive antigenic test, underlining the importance of viral transmission from asymptomatic individuals. The seroprevalence was higher in women and in individuals aged over 21 years.

It is a fact that in the period studied the restriction measures were important to control the spread of the virus and even infected people showed seroconversion although the longevity of this response is still unknown. The later introduction of vaccines allowed an easing of the containment measures, however serological studies continue to allow the monitoring of population immunity, namely against new viral variants.

O Papel dos testes Serológicos para deteção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

Keywords

SARS-CoV-2 infection, Seroprevalence, Portugal, Serologic tests, Public Health, Antibody response, COVID-19

O Papel dos testes Serológicos para deteção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

Agradecimentos

Em primeiro lugar agradecer às minhas professoras que me acompanharam em todo o processo deste estudo na qual foram incansáveis para o seu sucesso assim como na publicação do nosso artigo.

Em segundo lugar à minha família em especial ao meu marido, pela paciência e dedicação ao longo deste tempo de trabalho.

Por último, aos meus patrões e equipa da farmácia pela amabilidade, compreensão e ajuda no processo de aquisição de utentes, espaço de trabalho, entre outros.

A todos, essencialmente à professora Doutora Sandra Soares e Professora Doutora Ana Rita Castro o meu muito obrigada.

Paula Carvalho

O Papel dos testes Serológicos para detecção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

Resumo	VI
Abstract.....	VIII
Agradecimentos	X
I- Introdução	1
II- Desenvolvimento	4
2.1- Estrutura Viral.....	4
2.2- Resposta Imunológica	5
2.2.1. Testes serológicos.....	7
2.3 Manifestações clínicas	9
2.4 Vacinas	10
2.5. Prevenção	11
III – Metodologia.....	13
3.1 Participantes e questionário	13
3.2 Os testes Serológicos realizados.....	14
IV - Resultados	16
V – Discussão	19
VI – Conclusão	22
VII - Referências Bibliográficas.....	23
Anexos	29

O Papel dos testes Serológicos para deteção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

Índice de Figuras

Figura 1 – Infeção Viral por SARS-CoV-2.....	4
Figura 2 – Resultados dos testes serológicos IgG/IgM à COVID-19.....	9
Figura 3 – Localização geográfica da área de recolha de amostras.....	11
Figura 4 - Kit individual de cada teste serológico.....	14

Índice de Tabelas

Tabela 1 -Caracterização da amostra relativamente ao Género, Idade, Educação, Motivação para realização do teste e Exposição Profissional.....	17
Tabela 2 - Seroprevalência dos anticorpos IgG e IgM ao SARS-CoV-2.....	18

O Papel dos testes Serológicos para detecção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

I- Introdução

Em dezembro de 2019, a pandemia de Doença do Coronavírus (COVID-19, do inglês, *Corona Virus Disease 2019*), desencadeada pela Síndrome Respiratória Aguda Grave Coronavírus 2 (SARS-CoV-2), pertencente a um grupo de β -coronavírus, tornou-se na nova realidade destes tempos a nível mundial. Foi na República Popular da China (cidade de Wuhan, província de Hubei) onde foram evidenciados casos de pneumonia de etiologia desconhecida, posteriormente, confirmados pelas autoridades chinesas em 7 janeiro de 2020 como sendo o novo Coronavírus 2019 (Al-Qahtani, 2020).

É considerada uma emergência de saúde pública e de interesse global pela Organização Mundial da Saúde (OMS), visto que globalmente infetou e matou milhares de pessoas. O SARS-CoV-2 é agora considerado um vírus pandémico de rápida disseminação que foi, inicialmente, transmitido de animais para humanos e, posteriormente, transmitido de humano para humano (Muralidar *et al.*, 2020).

A SARS-CoV-2 apresenta um tempo médio de incubação de 5 dias (intervalo de 2-14 dias) e manifesta sintomas semelhantes ao vírus da gripe, que podem ser ligeiros a muito graves, como tosse (mais frequentemente seca), sintomas entéricos (como diarreia), cefaleias, anosmia, ageusia, febre, dificuldade a respirar e pneumonias graves. (Antoneli *et al.*, 2020). De acordo com as estatísticas disponíveis, a mortalidade é alta em indivíduos da faixa etária superior a 60 anos e em pessoas com outras comorbilidades, ou seja, pessoas de risco elevado que tenham outras patologias associadas, como imunodeprimidos, asmáticos, entre outros (Al-Qahtani, 2020). Além da síndrome do desconforto respiratório agudo e insuficiência respiratória, COVID-19 agora é conhecido por se manifestar como inflamação sistémica, levando à sepsia, lesão cardíaca aguda e insuficiência cardíaca e disfunção de múltiplos órgãos em pacientes de alto risco (Naqvi *et al.*, 2020).

Quanto mais os sintomas persistirem, maior é o risco da infeção por COVID-19 ser mais grave e ser necessário hospitalização, terapia intensiva e ventilação invasiva, variando assim a infeção de pessoas completamente assintomáticos para pessoas com quadros clínicos completamente devastadores (Kamps and Hoffmann, 2020).

O Papel dos testes Serológicos para detecção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

O SARS-CoV-2 é um vírus novo no homem, pelo que anticorpos específicos para a proteína de superfície (S) - responsável pela ligação do vírus ao recetor e fusão com a membrana celular, não são detetáveis na fase inicial da infeção. Para além disto, anticorpos estabelecidos anteriormente de outros coronavírus humanos não reconhecem esses antigénios (Boechat *et al.*, 2020).

No prazo de 19 dias após o início dos sintomas, a maioria dos doentes testam positivo para IgG antiviral. A seroconversão para IgG e a IgM ocorre simultaneamente ou sequencialmente aparecendo inicialmente IgM e posteriormente a IgG. Tanto o IgG como o IgM aparecem dentro de 6 dias (aproximadamente) após a seroconversão. Os testes serológicos podem ser úteis para o diagnóstico de doentes suspeitos com resultados negativos de RT-PCR e para a identificação de infeções assintomáticas (Long *et al.*, 2021). Os anticorpos IgG respondem em função à proteína S da cápsula viral e são presentes no corpo humano até 7 semanas após a infeção. Acredita-se que a durabilidade e capacidade de atuação destes anticorpos estejam relacionados com a severidade da infeção por COVID-19 (Long, 2019).

Apesar da diminuição do número de anticorpos anti-SARS-CoV2 ser gradual, estes ainda podem ser detetados até 11 meses após a infeção, mesmo que em níveis residuais. No entanto, já foi cientificamente comprovado que apesar da diminuição destes anticorpos IgG o organismo mantém uma resposta imunitária estimulada por células B memória encontradas na medula óssea (Turner *et al.*, 2021).

Nesta pandemia, vários testes imunológicos, baseados na detecção de antigénios ou anticorpos (IgG e IgM), tornaram-se recentemente disponíveis e aprovados para uso em todo o mundo. Os testes desenvolvidos para detetar os anticorpos SARS-CoV-2 são normalmente baseados em imunoensaios de fluxo lateral (LFIA's do inglês, *Lateral Flow Immunoassays*), ensaios de imunoabsorção enzimática (ELISAs do inglês, *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) ou imunoensaios quimioluminescentes (CLIAs do inglês, *chemiluminescent immunoassays*). Diferentemente dos testes baseados na detecção viral, (RT-PCR- do Inglês *Reverse transcription polymerase chain reaction*) cuja janela diagnóstica é curta e relacionada ao período de excreção viral, os testes serológicos têm a vantagem de serem marcadores de infeção mais duradouros, e classicamente têm sido

O Papel dos testes Serológicos para detecção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

utilizados como ferramenta na avaliação da disseminação de infeções em populações (Cota *et al.*, 2020).

Atualmente, os testes serológicos rápidos são mais fáceis de realizar, visto que requerem menos conhecimento técnico e equipamento, além disso são muito mais económicos e menos dolorosos de efetuar. Estes testes detetam os anticorpos e/ou antigénios, através de uma picada no dedo, usando da gota de sangue. São importantes no contexto de caracterização do estado imunológico em estudos epidemiológicos e de investigação. Apesar de várias limitações, principalmente devido ao desconhecimento da persistência dos anticorpos após a doença, os testes serológicos podem auxiliar como complemento dos testes de diagnóstico e na resposta da população em termos de Saúde Pública.

Com este estudo pretendeu-se realizar Testes Serológicos rápidos, numa Farmácia (Farmácia Popular) situada em Santo Tirso, distrito do Porto, para avaliar a presença de anticorpos IgM e IgG ao SARS-CoV-2, de modo a aferir o grau de exposição de uma Comunidade ao novo coronavírus. Foi ainda efetuado um questionário para uma Análise Descritiva da exposição dos indivíduos dessa comunidade ao COVID-19 tentando associar os dados epidemiológicos com fatores de risco como doenças cardiovasculares, diabetes entre outros.

O Papel dos testes Serológicos para detecção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

II- Desenvolvimento

2.1- Estrutura Viral

Coronavírus são um grupo de vírus com envelope, tendo um genoma de RNA (do inglês, *Ribonucleic Acid*) de fita simples positivo e patogénico. COVID-19 é causada pelo SARS-CoV-2 e é uma forma mais patogénica em comparação com SARS-CoV (2002) previamente identificado. Há uma necessidade urgente de estudar o vírus de forma mais holística para compreender o mecanismo da patogénese, a sua virulência e estratégias de defesa do mesmo, de maneira a desenvolver tratamentos eficazes capazes de acabar com a pandemia e assegurar a segurança da saúde pública mundial (Naqvi *et al.*, 2020).

Como se pode confirmar pela figura 1, os coronavírus contêm como estrutura viral numa proteína de membrana e de envelope, nucleoproteína e RNA. Estes possuem cinco proteínas estruturais, proteínas de superfície (S), envelope (E), nucleocapsídeo (N) e membrana (M). A proteína S é responsável pela ligação do vírus ao recetor e fusão com a membrana celular. Esta proteína interage com o RNA viral para formar a ribonucleoproteína, enquanto a proteína E é responsável pelos viriões e as ações do canal iónico. A proteína M responsabiliza-se pela formação de novas partículas de vírus (Kandeel *et al.*, 2020).

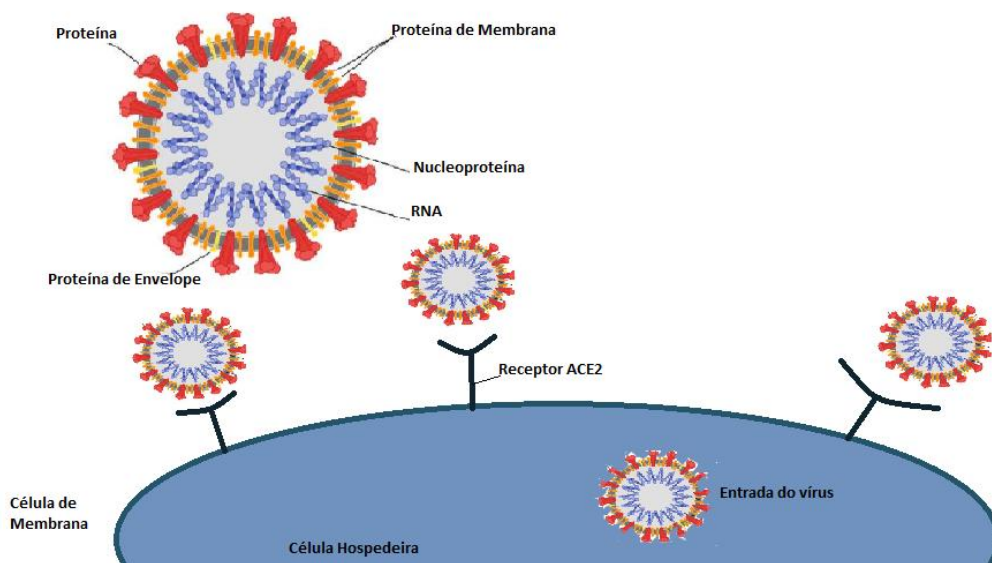


Figura 1 – Infeção viral por SARS-CoV-2 (adaptado de Naqvi *et al.*, 2020)

O Papel dos testes Serológicos para detecção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

A via de transmissão primária da infecção pelo SARS-CoV-2 é através de gotículas respiratórias e aerossóis (<5 µm em diâmetro) contendo o vírus. A partir da boca, o vírus pode propagar-se tanto para as vias respiratórias como para o canal intestinal. Além disso, sabe-se que o SARS-CoV-2 pode sobreviver em superfícies por 72 horas. Tocar num rosto contaminado pode, portanto, ser uma via de transmissão para a boca ou nariz através da mão. Nesta situação, existe o risco de ter infecção conjuntival ou mucosa (Bundgaard *et al.*, 2020). Quando uma pessoa infetada com SARS-CoV-2 respira fortemente, espirra, ou tosse, o SARS-CoV-2 é excretado sob a forma de aerossóis dispersos por centenas de metros no ar e causando assim transmissão por via aérea. As gotículas são responsáveis pela transmissão através das superfícies de contacto. (Tabatabaeizadeh, 2021).

Após a entrada do vírus a infecção pode causar alguns sintomas ou permanecer assintomática. Em alguns casos a pessoa infetada desenvolve Síndrome Respiratório Agudo e pode ter consequências mais graves necessitando *à posteriori* de internamento nas unidades de cuidados intensivos (Entrenas Castillo *et al.*, 2020).

2.2- Resposta Imunológica

Os coronavírus dependem das proteínas de superfície para se ligarem ao recetor da célula hospedeira durante a entrada na mesma. A proteína liga-se ao recetor do hospedeiro através do domínio de ligação ao recetor RBD (do inglês, *Receptor Binding Domain*) na subunidade S1, seguida pela fusão da subunidade S2 à membrana celular. Recetores de superfície celular diferentes reconhecem RBD das proteínas S de SARSCoV e MERS-CoV (do inglês, *Middle East Respiratory Syndrome-Corona Virus*). MERS-CoV reconhece a dipeptidil-peptidase-4 recetor. Considerando que o SARS-CoV e o SARS-CoV-2 reconhecem o recetor para se ligar à proteína S viral. Esses CoV's diferem principalmente no seu mecanismo de entrada no hospedeiro, sugerindo possíveis mudanças na composição residual da proteína S que pode, desta maneira, ditar a entrada do hospedeiro (Naqvi *et al.*, 2020).

Além do fato de que os mecanismos precisos de interação entre o sistema imunológico inato e SARS-CoV-2 ainda não foram descritos, é sugestivo de que as respostas imunes inatas e relevantes tipos de células desempenham um papel vital nos sintomas clínicos e gravidade da doença COVID-19 (Paces *et al.*, 2020). A imunidade

O Papel dos testes Serológicos para detecção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

inata antivírica relaciona vários componentes humorais, como os dos sistemas do complemento e da coagulação-fibrinólise, proteínas solúveis responsáveis por reconhecerem determinados glicanos na superfície das células, interferões (IFN) e citocinas com ação quimiotática (quimiocinas) e os chamados anticorpos naturais (IgM, mas também IgA e IgG) (Tang *et al.*, 2020). Inclui também diversos componentes celulares, entre os quais as células NK, linfócitos inatos (ILCs) e células T gama delta, que geralmente limitam a propagação da infeção vírica por ação citotóxica sobre as células alvo, produção de citocinas e promoção da resposta adaptativa (de linfócitos T e B) (Boechat *et al.*, 2020).

As mucosas são a primeira linha de defesa sendo protegidas contra o vírus por meio dos tecidos linfoides associados à mucosa. Uma vez que o SARS-CoV-2 invade o corpo humano através do trato respiratório, mucosa oral e epitélio conjuntival, a IgA presumivelmente protege essas barreiras físicas havendo assim um aumento da resposta IgA em casos graves de COVID-19. A resposta da IgA específica é detetável em parte dos pacientes na primeira semana e parece ser mais forte e persistente do que a resposta IgM. As células epiteliais infetadas com vírus produzem interferões e permitem que ocorra uma resposta imune inata robusta. As células dendríticas, macrófagos e neutrófilos, como a primeira linha de defesa, iniciam a reação imunológica e afetam seu tipo e intensidade. A intensidade da produção de IL-6 na SARS-Cov-2 foi ainda maior do que nas doenças respiratórias virais comuns (influenza e parainfluenza) (Paces *et al.*, 2020).

Embora os macrófagos possam desempenhar um papel crucial na patogénese de COVID-19, outras células do sistema imunológico inato também estão envolvidas, como um número elevado de monócitos foram observados em vasos sanguíneos danificados. Em casos graves de doença COVID-19, um aumento do número de neutrófilos também foi detetado. Além disto, altas proporções de neutrófilos e a razão neutrófilos / linfócitos têm sido associadas ao negativo prognóstico da doença (Long, 2020).

Em relação à imunidade adaptativa, sabemos que os anticorpos neutralizantes representam um papel crucial na resposta e no controlo da infeção vírica. Estes, limitam a infeção numa fase posterior da doença e evitam a reinfeção aquando um novo contacto posterior com o vírus. Os anticorpos específicos de SARS-CoV e MERS-CoV têm como

O Papel dos testes Serológicos para detecção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

alvo o S1-RBD, o domínio S1-terminal N (NTD) e a região S2, respetivamente, bloqueando a interação proteína-recetor e interferem com a entrada viral na célula hospedeira, inibindo assim infecção viral. No entanto, nenhum anticorpo neutralizante específico para SARS-CoV-2 foi descoberto até agora (Frederiksen *et al.*, 2020).

Presume-se que COVID-19 induz uma resposta imune semelhante a outras infeções virais e que a contagem de células T CD8 + diminuiu durante a infeção por COVID-19 e, em casos graves, a contagem de células T CD4 + de memória e células T regulatórias foi significativamente reduzida. Os gânglios linfáticos e o baço em pacientes com COVID-19 foram descritos como atróficos, o que destaca o papel do SARS-CoV2 em potencializar a degeneração celular (Frederiksen *et al.*, 2020).

Estudos revelaram ainda que conforme a gravidade da doença progride, os níveis séricos das citocinas pró-inflamatórias também aumentam (Ramiro *et al.*, 2020). Este aumento de citocinas pró-inflamatórias-“Cytokine storm”- também é associado ao esgotamento e exaustão funcional de Células T. As descobertas em relação às células T, nomeadamente na diminuição da sua resposta, destacam as fortes capacidades imunossupressoras de SARS-CoV-2 (Paces *et al.*, 2020).

Importa também realçar, que as formas de evolução graves da doença poderão associar-se à falha dos mecanismos de primeira defesa, inespecíficos, ou ao emergir de uma resposta imune adquirida, cuja amplificação inflamatória se pode tornar patogénica para o hospedeiro (Boechat *et al.*, 2020).

2.2.1. Testes serológicos

Cada vez mais é recorrente a procura de testes rápidos à COVID-19. Os ensaios serológicos estão incluídos em estudos de vigilância, não só para avaliar a presença de anticorpos contra a SRA-CoV-2 na população, mas também para monitorizar a imunidade de longa duração (Peeling *et al.*, 2020). São particularmente importantes no contexto de estudos epidemiológicos e, no caso da infeção por SRA COV 2, podem ser utilizados na vigilância de portadores assintomáticos (Aarons *et al.*, 2020).

Os testes serológicos são seguros e fiáveis dentro das condições padronizadas. Antes da realização do mesmo, devem ser tidos em conta alguns aspetos, como: contacto

O Papel dos testes Serológicos para deteção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

prévio com alguém infetado, presença de sintomas à COVID-19, a existência de comorbilidades e eventualmente se a pessoa testada faz alguma medicação.

Estar em contacto com alguém infetado, mesmo com o material de proteção adequado, pode significar um risco. Porém o teste serológico só deve ser realizado 7 dias após esse contacto, visto que o sistema imunitário não produz de imediato imunoglobulinas que sejam detetadas por estes meios de diagnóstico (Barbosa Baptista, 2020)

A existência de sintomas relacionados à COVID-19 podem ser um motivo para a realização destes testes. É importante perceber o tipo de sintomas que apresentam e se estes se enquadram na doença. Não se pode descartar a hipótese da existência de indivíduos assintomáticos, mas também tentar perceber se a realização do teste será apenas por motivos psicológicos ou se há uma justificação viável. Caso o indivíduo apresente sintomas compatíveis à COVID-19, é obrigatório perceber a duração dos mesmos e relacionar com a janela imunológica do vírus. Nestes casos, se o teste for negativo, não descartar um segundo teste ou então reencaminhar o indivíduo para o seu médico de família de modo a confirmar se os sintomas se adequam a outra patologia que não COVID-19.

A existência de comorbilidades também deve ser tomada em conta, uma vez que o contacto com o vírus pode agravar as mesmas ou criar novas doenças. Grupos populacionais específicos são mais vulneráveis a esta infeção, tais como a população envelhecida ou com doenças crónicas, tais como hipertensão, diabetes, doença pulmonar obstrutiva crónica, doenças cardiovasculares e doenças autoimunes (Laires et al., 2020)

Atualmente existe uma grande variedade de testes serológicos no mercado variando no tipo de técnica imunológica utilizada: técnica de *western blot*, enzimática, de imunofluorescência, de imunoensaio de fluxo lateral e teste de neutralização viral (James et al., 2021).

Em Portugal, um dos testes mais comuns nas Farmácias comunitárias utiliza a técnica imunoensaio de fluxo lateral, devido à sua rapidez e de não necessitar de recursos laboratoriais específicos. Neste tipo de teste os resultados podem surgir de três maneiras como indicado na figura 2. Em 1 temos o exemplo de um resultado negativo em que apenas a linha de controlo (C) é visível, em 2 temos um resultado positivo para IgG,

O Papel dos testes Serológicos para deteção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

sinónimo de imunidade e não de infeção ativa. Em 3 apenas as IgM são detetadas, o que significa que o utente tem uma infeção ativa no momento. Quanto ao exemplo 4, em que ambos aparecem positivos, IgG e IgM significa que temos uma infeção recente, visto que as imunoglobulinas IgM ainda estão presentes, mas como já são evidenciadas as IgG significa que a segunda resposta imunitária já se está a desenvolver – memória (NADAL[®],2020)

De realçar que um teste em que a linha C não seja visível, é considerado inválido, visto que essa linha serve de marcador “controlo” para garantir ao operador que o teste está a funcionar corretamente. Também em alguns casos as linhas podem ser mais ou menos ténues, isso está relacionado com a concentração de SARS-COV-2 presente na amostra, mas mesmo que seja uma linha muito ténue deve-se considerar positivo. Em caso de dúvida, o farmacêutico deve repetir o teste ou então encaminhar o utente para uma pesquisa de antígenos à SARS-COV-2.

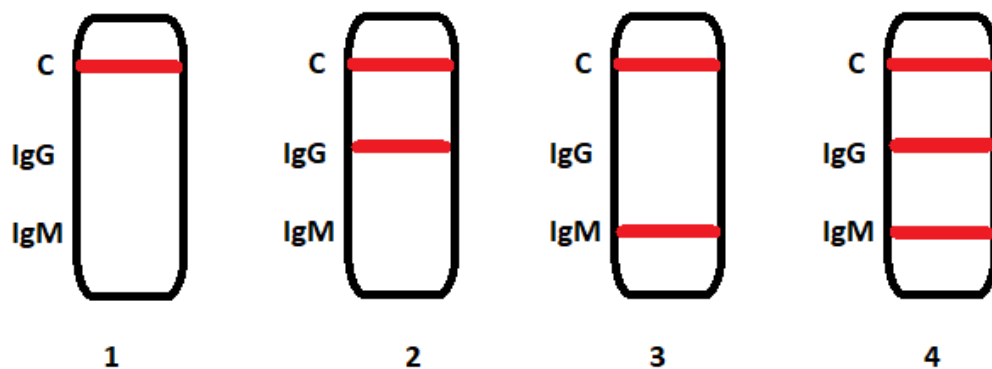


Figura 2. Resultados dos testes serológicos IgG/IgM à COVID-19.

2.3 Manifestações clínicas

Os sintomas que afetam os indivíduos infetados por COVID 19 assemelham-se aos de uma gripe comum e, como referido anteriormente, apenas alguns indivíduos os desenvolvem. As dores abdominais e a perda de apetite são sintomas moderados, podendo existir febre (às vezes extremamente alta), fadiga, dores musculares, náuseas e diarreia, tosse seca e dificuldades respiratórias. Outros sintomas como dor de cabeça, perda de olfato e paladar e descoloração nas extremidades podem acontecer (Ahmad *et al.*, 2020).

O Papel dos testes Serológicos para deteção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

As comorbilidades mais comuns, para quem necessita de internamento incluem hipertensão, diabetes e doenças cardíacas (Barbosa Baptista, 2020). A idade, linfopenia, leucocitose, lactato desidrogenase, troponina I cardíaca de alta sensibilidade, creatina elevada, ferritina sérica, IL-6, tempo de protrombina, creatinina e procalcitonina são associados a casos mais graves podendo inclusive levar à morte (Fei *et al.*, 2020).

Estudos revelam que morrem mais homens do que mulheres em consequência da infeção por COVID 19 e que, talvez, este fenómeno esteja relacionado ao tabagismo e diferenças imunológicas (Wenhan *et al.*, 2020). Também a idade aqui é um fator importante visto que ao avançar a idade há carência do sistema imunológico e maior risco de outras doenças com impacto no combate à COVID-19 assim como sequelas respiratórias, nomeadamente pulmonares como a doença pulmonar obstrutiva crónica (Barbosa Baptista, 2020).

Num estudo realizado na China os autores concluíram que o risco de internamento na unidade de cuidados intensivos foi maior pela presença de qualquer comorbilidade (Guan *et al.*, 2020).

2.4 Vacinas

No final do ano de 2020 algumas farmacêuticas conseguiram concluir com sucesso a produção de vacinas contra a SARS-CoV-2. Em Portugal estão aprovadas pelo INFARMED quatro vacinas, duas utilizam como material imunogénico o RNAm codificante da proteína S (Spikevax e Comirnaty) e as outras utilizam sub-unidades a própria proteína S (INFARMED, 2020). Cada uma dessas vacinas possuem vantagens e desvantagens, entretanto, características essenciais como velocidade de desenvolvimento, flexibilidade de fabricação, segurança, estabilidade, período de imunidade, incremento de escala e custos de produção devem ser consideradas (Santana *et al.*, 2020).

Portugal encontra-se com um plano de vacinação composto por três fases, em que na primeira fase de vacinação foi dada prioridade a profissionais de saúde, idosos, imunodeprimidos e pessoas com doenças de alto risco, profissionais de lares e cuidadores de idosos. Este plano foi realizado conforme as unidades disponíveis de vacinas e foi tido em conta o histórico de infeção por Covid-19 (DGS, 2020).

O Papel dos testes Serológicos para deteção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

Até aos dias de hoje foi verificado que existem algumas regras a respeito da vacinação como por exemplo quem já apresentar um histórico de infeção por COVID-19 só é vacinado com uma dose (DGS, 2020). Aspeto este que levanta algumas questões relevantes como por exemplo indivíduos que tenham tido COVID-19 assintomáticos em que nunca foi detetada a infeção, neste momento de vacinação são vacinados com duas doses estando, portanto, no mesmo patamar dos indivíduos detetados, mas usufruindo de um plano de vacinação diferente. Atualmente também estão a ser descritos casos de infeção com as duas doses da vacina o que cada vez mais aponta para uma terceira dose a cada indivíduo atendendo ao facto de que a vacinação não esteja a decorrer como seria de esperar e que a eficácia desta levanta muitas perguntas, especialmente porque estamos perante novas estirpes em que escapam de completo a estas vacinas que estão a ser usadas mundialmente (Lawton, 2021).

2.5. Prevenção

A prevenção do contágio deste vírus passa pelo uso de máscara que impede a entrada do vírus pela boca e nariz, solução hidroalcoólica para desinfeção de mãos e superfícies assim como a distância de segurança e isolamento social, cuidados que em Portugal foram transmitidos através de vários meios de comunicação (ANEXO II) (DGS) (Tabatabaeizadeh, 2021). Devido à progressão galopante do número de casos e da elevada mortalidade as medidas radicais de distanciamento social e confinamento ou quarentena nacional foram decisivas principalmente pelos transmissores assintomáticos. As intervenções das Instituições e Governos, contribuíram para a diminuição no avanço do curso da pandemia e das mortes, e proporcionaram uma adaptação progressiva das medidas aplicadas (Jones, 2020).

As estratégias imediatas de controle da transmissão do vírus são necessárias, principalmente para os profissionais de saúde. A transmissão de pessoa a pessoa é maior nos hospitais, local onde a precaução com a geração de aerossóis é fundamental. Os impactos são imensos no sistema de saúde de cada país e também na economia (Paules *et al.*, 2020). As pessoas com maior risco de infeção são aquelas que estão em contato próximo com um paciente COVID-19 ou que cuida do mesmo e pacientes portadores de comorbilidades e idosos. Entre as medidas de prevenção destacam-se: a higienização das

O Papel dos testes Serológicos para detecção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

mãos, com frequência, com água e sabão por pelo menos 30 segundos, e/ou a utilização do álcool etílico líquido ou em gel a 70%, evitar tocar nos olhos, nariz e boca; tossir ou espirrar no cotovelo ou tecido dobrado ou lenços descartáveis e depois descartar imediatamente. Usar uma máscara descartável, realizar a higienização das mãos após descarte da máscara e a manutenção da distância social no mínimo 1 metro (Barbosa Baptista, 2020). A antissepsia, principalmente das mãos, é fundamental para evitar a proliferação de microrganismos capazes de desenvolver patologias (Who,2020).

O Papel dos testes Serológicos para detecção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

III – Metodologia

3.1 Participantes e questionário

A amostra alvo incluiu a população geral de quatro freguesias do concelho de Santo Tirso, com uma área de 27,15 km² e 18 294 habitantes, foram à Farmácia Popular para realizar testes serológicos para a COVID- 19 (Figura 3). Solicitou-se a estes indivíduos a sua participação neste estudo de forma voluntária e cada participante deu o seu consentimento informado por escrito (Anexo III) excepto os menores de 18 anos que tinham o consentimento dos pais. Todos eles receberam um inquérito (Anexo IV) que abrangia as suas principais características demográficas, situação de trabalho, informações sobre o contacto com casos positivos da COVID- 19, sinais e sintomas de infeção e casos positivos anteriores da SARS-CoV2. Os sintomas que foram considerados no inquérito foram febre, dor de cabeça, tosse, dispneia e astenia. Foram também analisadas as comorbilidades pré-existentes: hipertensão, diabetes, doenças cardiovasculares, doenças respiratórias, auto-ímmunes e oncológicas.

Foram preenchidos cerca de 121 questionários num espaço temporal de três meses, durante o ano de 2021, que correspondeu à terceira vaga de infeções, com uma elevada taxa de mortalidade e que correspondeu a um novo confinamento nacional.

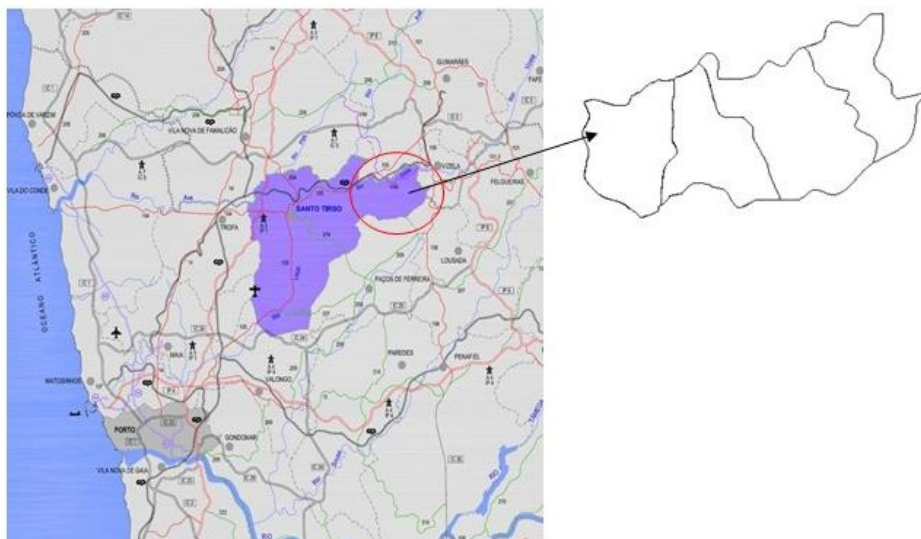


Figura 3- Localização geográfica da área de recolha de amostras

O Papel dos testes Serológicos para detecção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

3.2 Os testes Serológicos realizados

Cada teste vem embalado em bolsas fechadas apresentam um kit, como na figura 4, composto por pipeta, reagente, lanceta descartável e cassete de teste. Assim que abrir o kit o teste deve ser imediatamente realizado para resultados mais fiáveis. De realçar que antes da realização do teste o farmacêutico tem o dever de ler a bula de cada teste, especialmente se mudar de fabricante. Em primeiro lugar o operador deve identificar a cassete de teste com o nome ou abreviatura que identifique o utente e pousar a mesma numa superfície limpa e desinfetada.

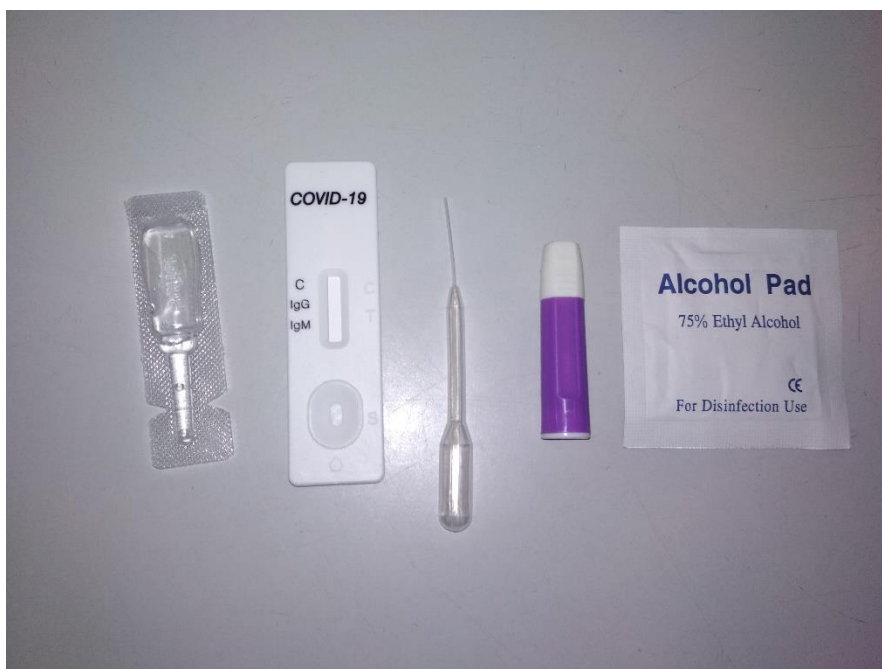


Figura 4 – Kit individual de cada teste serológico (composto por, da esquerda para a direita, reagente – cassete – pipeta – lanceta – toalhita desinfetante)

Para a realização deste trabalho a cada participante foi realizada a picada no dedo, usando a lanceta descartável, sugando o sangue com a pipeta (cerca de 10 μ l). Essa amostra foi depositada no quadrado da cassete e de seguida colocado o reagente correspondente a cada teste (cerca de 2 gotas). Após dez minutos foram lidos e interpretados, comunicando e explicando ao utente o mesmo.

O teste utilizado para detetar a presença de IgM e IgG contra SARS-CoV2 foi um ensaio de fluxo lateral comercial (OnSite™), de acordo com as informações do fabricante, com uma sensibilidade de 96,86% e uma especificidade de 99,39%.

O Papel dos testes Serológicos para deteção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

Após a descrição dos participantes do estudo, foi feita uma estimativa da seroprevalência - resultado positivo para IgM e/ou IgG - de acordo com a idade, sexo, educação, exposição profissional e sintomas COVID-19 após um contacto ou teste prévio positivo.

O Papel dos testes Serológicos para deteção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

IV - Resultados

No estudo realizado entre 22 de Janeiro de 2021 e 16 de Março de 2021, participaram 121 indivíduos.

Como se pode verificar na tabela 1, no total, 68 participantes (56,2%) eram mulheres e 53 eram homens (43,8%). Sete (5,8%) tinham 20 anos, 54 (44,6%) tinham [21-40] anos, 39 (32,2%) tinham [41-60] anos, 18 (14,9%) tinham [61-80] anos e 3 (2,5%) tinham mais de 80 anos. Relativamente aos níveis de educação, 86 (69,1%) tinham formação básica e os outros, 35 (28,9%), tinham formação superior. De todos os participantes, 60 (49,6%) referiram sintomas compatíveis com infeção por SARS-CoV-2, 46 (38%) referiram contacto com um caso positivo e os restantes 15 (12,4%) estavam curiosos sobre o seu perfil sorológico. Oitenta e cinco dos participantes (70 %) trabalharam presencialmente durante o confinamento e 36 (30%) trabalharam a partir de casa.

O Papel dos testes Serológicos para detecção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

Tabela 1. Caracterização da amostra relativamente ao Género, Idade, Educação, Motivação para realização do teste e Exposição Profissional.

Características	n	% (percentagem)
Género		
Feminino	68	56.2
Masculino	53	43.8
Faixa Etária		
≤20	7	5.8
21-40	54	44.6
41-60	39	32.2
61-80	18	14.9
≥81	3	2.5
Nível de Educação		
Educação Básica	86	69.1
Educação Superior	35	28.9
Motivo da realização do teste		
Sintomas compatíveis com a infeção por SARS-CoV-19	60	49.6
Contacto com um caso positivo por COVID	46	38
Curiosidade sobre o seu estado de imunologia	15	12.4
Ocupação profissional		
Trabalhar presencialmente	85	70
Tele-trabalho	36	30

A seroprevalência da infeção por SARS-CoV-2 (positiva para IgM e/ou IgG) foi de 50 (41,3%), dos quais 15,7% IgG positiva, 11,6% IgM positiva e 14% positiva tanto para IgM como para IgG, como podemos observar pela tabela 2. Globalmente, a seroprevalência foi mais elevada nas mulheres (60%) em comparação com os homens (40%). Considerando os grupos de idade, a seroprevalência foi mais elevada em indivíduos entre 21 e 60 anos (80%), em comparação com participantes com mais de 61 anos (14%) e com menos de 21 anos (6%). Os casos positivos de IgG e/ou IgM pertencem ao grupo de pessoas que trabalham presencialmente (74%). Do total de casos positivos, 44% tinha sintomas de infeção por SARS-CoV-2 e 46% tinha contacto com uma pessoa infectada. Entre os casos seropositivos, 36% tiveram um teste positivo anterior da SARS-CoV-2. Este teste tinha sido feito entre Janeiro/Fevereiro de 2021 (33,3% dos casos) ou durante o ano 2020 (66,7%). Considerando apenas os casos IgM e IgG positivos, todos

O Papel dos testes Serológicos para deteção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

tiveram um teste positivo anterior ao SARS-CoV-2, embora metade deles tenha tido um teste positivo antes do inquérito do estudo.

De todos, 36% apresentaram comorbilidades específicas, nomeadamente hipertensão, diabetes e doenças cardiovasculares, mas também 35% dos casos negativos apresentaram algumas comorbilidades.

Tabela 2 – Seroprevalência dos anticorpos IgG e IgM ao SARS-CoV-2

Características	IgG	IgM	IgG e IgM
Amostra	19 (15.7)	14 (11.6)	17 (14)
Género			
Feminino	16 (32)	6 (12)	8 (16)
Masculino	3 (6)	8 (16)	9 (18)
Faixa etária			
≤20	0 (0)	1 (2)	2 (2)
21-60	16 (32)	12 (24)	12 (24)
≥61	3 (6)	1 (2)	3 (6)
Nível de Educação			
Educação básica	10 (20)	10 (20)	11 (22)
Educação superior	9 (18)	4 (8)	6 (12)
Ocupação profissional			
Trabalho presencial	16 (32)	11 (22)	10 (20)
Tele-trabalho	3 (6)	3(6)	7 (14)
Motivo da realização do teste			
Sintomas compatíveis com a infeção por SARS-CoV-19	7 (14)	3 (6)	12 (24)
Contacto com um caso positivo por COVID	7 (14)	11 (22)	5 (10)
Curiosidade sobre o seu estado de imunologia	5 (10)	0 (0)	0 (0)

O Papel dos testes Serológicos para deteção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

V – Discussão

Os resultados obtidos refletem os efeitos da terceira vaga epidémica, bem como do confinamento do país com várias áreas afetadas, especialmente no Norte.

Os 43% de seroprevalência da SARS-CoV-2 observados neste estudo, relativos apenas a uma zona restrita de um concelho de Portugal, reflectem efectivamente os elevados níveis de infeção e, conseqüentemente, os números de mortalidade oficialmente referidos para o Norte do país (Shaaban *et al.*, 2020). No Norte, particularmente em áreas não urbanas, existem grandes indústrias que requerem trabalho presencial, sendo o risco de exposição à SARS-CoV-2 maior (Laires *et al.*, 2019; 2020). Além disso, estes resultados podem estar relacionados com um nível mais elevado de factores de risco (comorbilidades) ou apenas devido à dimensão da população.

A seroprevalência foi mais elevada nas mulheres do que nos homens, uma diferença de 20%, embora não haja relatos de diferenças de género nas taxas de proporção de pessoas com COVID-19, apesar de nos homens haver uma elevada taxa de mortalidade após a infeção (Peckham *et al.*, 2020). Isto pode reflectir a exposição profissional e a desproporção que existe entre mulheres e homens que trabalham em sectores essenciais como trabalhadores de fábricas, grossistas e retalhistas (Gaitens *et al.*, 2020).

Quando se analisa a seroprevalência por grupo etário, verificamos uma elevada prevalência em indivíduos entre 21 e 60 anos, tal como relatado por Pagani (Pagani *et al.*, 2020), contudo, outros estudos relatam não haver qualquer associação (Kislaya *et al.*, 2020). Este resultado pode sugerir que nas pessoas mais jovens a susceptibilidade à infeção é menor, explicada pelo facto de a expressão dos receptores ACE aumentar com a idade (Bourgonje *et al.*, 2020; Li Y *et al.*, 2020), bem pelo fato de as medidas de bloqueio impostas pelo governo. Em pessoas com mais de 61 anos de idade, a seroprevalência diminuiu. Sendo um grupo de alto risco, mantiveram um isolamento rigoroso durante este período, esperando que a vacina contra a SARS-CoV 2 estivesse disponível, o que começou em Fevereiro de 2021. Outra hipótese para a diminuição da seroprevalência para estas idades é a menor capacidade de gerar imunidade em pessoas mais velhas (Pawelec, 2020).

O Papel dos testes Serológicos para detecção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

A exposição profissional dos participantes resultou numa maior seroprevalência (74%) versus 26% em trabalho remoto, em concomitância com vários autores (Gaitens, 2021; Hawkins, 2020). A ocupação profissional resulta de uma maior exposição a infeções, nomeadamente em trabalho presencial. Neste estudo, a maioria dos participantes eram trabalhadores de indústrias e serviços essenciais (mercearias, retalhistas e assistentes de farmácia/dentista). As percentagens mais elevadas de infeção refletem a proximidade, sem proteção eficaz contra a infeção pelo vírus (Gaitens, 2021). Isto também é apoiado pelo número de casos positivos pertencentes a indivíduos com educação básica (69,1%).

Quanto ao motivo para realizar o teste serológico, 44% dos casos positivos apresentaram sintomas compatíveis com a infeção pelo SARS-CoV 2, tais como tosse, dispneia, astenia e outros. Ou outros 46% dos casos positivos tiveram contactos de risco, quer no trabalho, quer em casa. Estes resultados apoiam assim a importância do distanciamento social como um dos meios mais eficazes para parar a transmissão do vírus.

Atendendo a que 44% dos participantes seropositivos eram sintomáticos, isso significa que 56% estavam assintomáticos, aumentando o risco de transmissão. Os portadores assintomáticos foram anteriormente reconhecidos como tendo um papel importante na propagação da pandemia (Arons et al., 2020; Ganghi, 2020). Devido a esta característica, países como o Luxemburgo adotaram estratégias como o rastreio em massa da população por RT-PCR, em paralelo com o alívio das medidas de restrição após o confinamento (Wilmes, 2021). O facto de as pessoas assintomáticas serem portadoras da infeção pode significar que os testes serológicos têm de ser repensados porque a dinâmica da infeção pelo SARS-CoV 2 ainda é pouco compreendida (Peeling *et al.*, 2020).

Quando questionados sobre o teste anterior de antígeno positivo para a SARS-CoV-2, no total de casos seropositivos, 36% já tinham tido uma infeção, detectada ou em Janeiro-Fevereiro de 2021 (33,3%) ou durante 2020 (66,7%). Embora seja necessária confirmação, isto mostra que a seroconversão ocorreu como esperado (Zhao J *et al.*, 2020).

Quando analisámos apenas os casos positivos de IgM e IgG, todos eles tinham um teste positivo anterior da SARS-CoV-2, metade deles em Janeiro/Fevereiro de 2021, antes do estudo em questão. Isto pode sugerir que, os indivíduos com teste positivo em 2021

O Papel dos testes Serológicos para deteção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

encontram-se de facto no período de seroconversão. Quanto aos outros, pode-se especular que representam casos de reinfeção ou talvez de reactividade cruzada. Dado que a reactividade cruzada foi demonstrada nos testes serológicos dependendo dos doentes com COVID-19 aos antigénios de outros SARS-CoV (Long Q-X, 2020; Okba *et al.*, 2020). A percentagem de casos positivos com comorbilidades específicas (36%) foi semelhante à dos outros participantes com serologia negativa (35%). Assim, a prevalência de condições crónicas, em geral, foi concordante com dados da população portuguesa: hipertensão, doenças cardiovasculares e diabetes (Laires, 2019).

Os testes serológicos fornecem a primeira linha de informação sobre a resposta imunitária à SARS-CoV-2. Como mencionado anteriormente, estando disponíveis e de baixo custo para a maioria da população, muitos dos participantes optaram por fazer este teste. Após Março de 2021, os testes rápidos de antigénio estavam disponíveis com preços relativamente acessíveis para a população em geral. Ainda assim, embora o rastreio em massa da população para o antigénio SARS-CoV-2 não seja viável, os testes serológicos podem constituir a primeira abordagem para a deteção da.

As limitações deste estudo são variadas, nomeadamente o tamanho relativamente pequeno da amostra, o que reflecte o período específico do estudo. Note-se que, nessa altura, Portugal se encontrava num período de confinamento e, como referido anteriormente, os testes rápidos de antigénios da SARS-CoV-2 ainda não estavam disponíveis nas farmácias. Além disso, o estudo está centrado numa região particular de Portugal, uma zona norte não urbana, não representando assim a população em geral. Considerando o teste serológico em si, os casos positivos de IgM devem ser confirmados por RT-PCR ao abrigo dos protocolos do sistema nacional de saúde.

O Papel dos testes Serológicos para deteção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

VI – Conclusão

Estes resultados sugerem que no período em estudo (Janeiro a Março de 2021) as condições de confinamento foram eficazes e nas pessoas infetadas ocorreu a seroconversão. É essencial estudar a seroprevalência da SARS-CoV-2 para monitorizar a imunidade da população, especialmente casos assintomáticos, e a transmissão. Mesmo assim, também são necessários testes massivos de rastreio de antígenos para decidir as estratégias seguintes a adotar após o confinamento. É urgente a realização de mais estudos clínicos de modo a verificar a duração da imunidade e se protege a população de novas variantes da COVID 19. A introdução da vacina em Fevereiro de 2021 à população em geral foi um passo para parar a transmissão da doença, sendo que atualmente, Portugal está perto da imunidade de grupo, havendo no entanto casos de infeção pelo vírus mesmo em população já vacinada, o que levanta várias questões relacionadas com a eficácia da vacina assim como novas variantes do vírus. Surge a preocupação das sequelas a longo prazo deste vírus, bem como da toma de uma vacina que foi produzida e distribuída mundialmente num curto espaço tempo.

Neste momento, tem-se verificado uma diminuição significativa da mortalidade em Portugal, o que pode ser reflexo não só da elevada taxa de pessoas vacinadas, como do impacto positivo das medidas de restrição impostas.

O Papel dos testes Serológicos para detecção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

VII - Referências Bibliográficas

Ahmad S, Hafeez A, Siddqui SA, Ahmad M, Mishra S. A Review of COVID-19 (Coronavirus Disease-2019) Diagnosis, Treatments and Prevention. EJMO 2020;4(2):116–125.

Al-Qahtani, A. A. (2020). Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2): Emergence, history, basic and clinical aspects. Saudi J Biol Sci 27: 2531-2538.

Antonelli, G., et al. (2020). "SARS-CoV-2 diagnostics: Some reflections on current assays." Diagn Microbiol Infect Dis 99: 115237.

Arons MM, Hatfield KM, Reddy SC, et al. Presymptomatic SARS-CoV-2 infections and transmission in a skilled nursing facility. N Engl J Med 2020; 382:2081-90.

Barbosa Baptista, A. & Vieira Fernandes, L. 2020. Covid-19, Análise Das Estratégias De Prevenção, Cuidados E Complicações Sintomáticas. DESAFIOS - Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins, 7, 38-47.

Boechat, J. L., Chora, i. & Delgado, L. 2020. Imunologia da Doença por Coronavírus-19 (COVID-19): Uma Perspetiva Para o Clínico, nos Primeiros 4 Meses da Emergência do SARS-CoV-2 Revista da Sociedade Portuguesa de Medicina Interna, 1-10.

Boechat, J.L., Chora I., Delgado L. 2020 Imunologia da Doença por Coronavírus-19 (COVID-19): Uma Perspetiva Para o Clínico, nos Primeiros 4 Meses da Emergência do SARS-CoV-2. Revista da Sociedade Portuguesa de Medicina Interna. Publicação Especial Covid COVID-19, 1-10.

Bourgonje AR, Abdulle AE, Timens W, Hillebrands J-L, Navis GJ, Gordijn SN et al. Angiotensin converting enzyme-2 (ACE2), SARS-CoV-2 and pathophysiology of coronavirus disease 2019 (COVID-19). J Pathol. 2020;251:228-48.

Bundgaard, H., Bundgaard, J.S, Raaschou-Pedersen, D.E., Mariager, A.F., Schytte, N., Buchwald, C., Todsén, T., Skovgaard, K., Trebbien, R., Andersen, M.P., Benfield T.,

O Papel dos testes Serológicos para deteção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

Ullum H, Torp-Pedersen C., & Iversen K. Face masks for the prevention of COVID-19 - Rationale and design of the randomised controlled trial DANMASK-19, Danish Medical Journal 2020, 67:A05200363.

Cota, G., Freire, M., Souza, C., Pedras, M., Saliba, J., Faria, V., Alves, L., Rabello, A., Avelar, D. (2020). Diagnostic performance of commercially available COVID-19 serology tests in Brazil. *Int J Infect Dis* 101: 382-390.

Direção Geral de Saúde, 2020. https://covid19.min-saude.pt/wp-content/uploads/2020/12/304_DGS_boletim_20201231-002.pdf

Direção Geral de Saúde, 2021. https://covid19.min-saude.pt/wp-content/uploads/2020/12/PLANO-VACINAC%CC%A7A%CC%83O_20201203.pdf

Entrenas Castillo, M., Entrenas Costa, L. M., Vaquero Barrios, J. M., Alcala Diaz, J. F., Lopez Miranda, J., Bouillon, R. & Quesada Gomez, J. M. 2020. "Effect of calcifediol treatment and best available therapy versus best available therapy on intensive care unit admission and mortality among patients hospitalized for COVID-19: A pilot randomized clinical study". *J Steroid Biochem Mol Biol*, 203, 105751.

Fei, Z., Ting, Y., Ronghui, D., Guohoi, F., Ying, L., Zhibo, L., JIE, X., Yeming, W., Bin, S., Xiaowing, G., Lulu, G. Yuan, W., Hui, L., Xudong W., Jiuyang, X., Shengjin, T., YI, Z., Hua, C., Bin, C. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *The Lancet*, 395, 2020.

Frederiksen, I. S. F., Zhang, Y., Foged, C. & Thakur, A. 2020. The Long Road Toward COVID-19 Herd Immunity: Vaccine Platform Technologies and Mass Immunization Strategies. *Front Immunol*, 11, 1817.

Gaitens J, Condon M, Fernandes E and McDiarmid M COVID-19 and essential workers: a narrative review of health outcomes and moral injury, *Int J Environ Res Public Health* 2021, 18:144601.

O Papel dos testes Serológicos para deteção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

Guan W., Liang W., Zhao Y., Liang H., Chen, Z., Li, Y., Liu, X., Chen, R., Tang, C., Wang, T. 2020. Comorbidity and its impact on 1590 patients with COVID-19 in China: A Nationwide Analysis. *Eur Respir J.* 14, 55:2000547

Hawkins D. Differential occupational risk for COVID-19 and other infection exposure according to race and ethnicity. *Am J Ind Med.* 2020;63:817-20

INFARMED, disponível em - infarmed.pt/web/infarmed/vacinas-aprovadas, agosto 2020.

James J., Rhodes S, Ross C.S., Skinner P., Smith S.P., Shipley R., Warren C.J., Goharriz H., McElhinney L.M., Temperton N., Wright E., Fooks A.R., Clark T.W., Brookes S.M., Brown I.H., Banyard A.C. 2021. Comparison of Serological Assays for the Detection of SARS-CoV-2 Antibodies. *Viruses.* 20, 13:713.

Jones, D.S. History in a Crisis — Lessons for COVID-19. *N. EngL. J. Med.* March 12, 2020.

Kamps, B.S. & Hoffmann C. (2020). Covid reference. Steinhauser Verlag. Ed 2020.4

Kislaya I, Gonçatvs P, Barreto M, et al. Seroprevalence of SARS-CoV-2 Infection in Portugal in May-July 2020: Results of the First National Serological Survey (ISNCOVID-19) *Acta medica portuguesa* 2021; 34:87-94.

Laires PA. and Nunes C. Population-based Estimates for High Risk of Severe COVID-19 Disease due to Age and Underlying Health *Acta Med Port* 2020; 33:720-725.

Laires PA, Perelman J. The current and projected burden of multimorbidity: a cross sectional study in a Southern Europe population *European Journal of Ageing* 2019; 16:181–192.

Lawton G. Are booster shots coming?. *New Sci.* 2021;250(3334):8-9. doi:10.1016/S0262-4079(21)00808-3

O Papel dos testes Serológicos para detecção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

Li Y, Zhou W, Yang L, You R. Physiological and pathological regulation of ACE2, the SARS-CoV-2 receptor. *Pharmacol Res.* 2020;157:104833.

Long, Q. X., Liu, B. Z., Deng, H. J., Wu, G. C., Deng, K., Chen, Y. K., Liao, P., Qiu, J. F., Lin, Y., Cai, X. F., Wang, D. Q., Hu, Y., Ren, J. H., Tang, N., XU, Y. Y., Yu, L. H., Mo, Z., Gong, F., Zhang, X. L., Tian, W. G., Hu, L., Zhang, X. X., Xiang, J. L., Du, H. X., Liu, H. W., Lang, C. H., Luo, X. H., Wu, S. B., Cui, X. P., Zhou, Z., Zhu, M. M., Wang, J., Xue, C. J., LI, X. F., Wang, L., LI, Z. J., Wang, K., Niu, C. C., Yang, Q. Kandeel, M., Ibrahim A., Fayez M. & Al-NAzawi M. (2020). From SARS and MERS CoVs to SARS-CoV-2: Moving toward more biased codon usage in viral structural and nonstructural genes. *J Med Vir* 92: 660-666.

Muralidar, S., et al. (2020). The emergence of COVID-19 as a global pandemic: Understanding the epidemiology, immune response and potential therapeutic targets of SARS-CoV-2. *Biochimie* 179: 85-100.

NADAL[®] COVID-19 IgG/IgM test ref, 243001N-10, Nal Von Minden, 2020.

Naqvi, A.A.T., Fatima K., Mohammad T., Fatima U., Singh I.K., Singh A., Atif S.M., Hariprasad G., Mustafa M., Hassa M.I. (2020). Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* 1866: 165878.

Paces, J., Strizova, Z., Smrz, D. & Cerny, J. 2020. COVID-19 and the immune system. *Physiol Res*, 69, 379-388.

Pagani G, Conti F, Giacomelli A et al. Seroprevalence of SARS-CoV-2 significantly varies with age: Preliminary results from a mass population screening. *Journal of Infection* 2020; 81: e10-e12.

Paules, C.I., Marston, .D., Fauci, .S. 2020. Coronavirus Infections—More Than Just the Common Cold. *JAMA*, 323, 707-708.

Pawelec G and Weng NP. Can an effective SARSCoV-2 vaccine be developed for the older population? *Immun Ageing.* 2020;17:8

O Papel dos testes Serológicos para deteção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

Peckham H, Grujter NM, Raine C et al. Male sex identified by global COVID-19 meta-analysis as a risk factor for death and ITU Nature Communication 2020; 11:6317. 10-

Peeling R, Wedderburn CJ, Garcoa PJ. et al. Serology testing in the COVID-19 pandemic response. Lancet 2020; 20: E245-E249

Ramiro, S., Mostard, R. L. M., Magro-Checa, C., Van Dongen, C. M. P., Dormans, T., Buijs, J., Gronenschild, M., de Kruif, M. D., Van Haren, E. H. J., Van Kraaij, T., Leers, M. P. G., Peeters, R., Wong, D. R. & Landewe, R. B. M. 2020. Historically controlled comparison of glucocorticoids with or without tocilizumab versus supportive care only in patients with COVID-19-associated cytokine storm syndrome: results of the CHIC study. Ann Rheum Dis, 79, 1143-1151.

Santana, H. S., De Souza, M. R. P., Lopess, M. G. M., Souza, J., Silva, R. R. O., Palma, M. S. A., Nakano, W. L. V., Lima, G. A. S., Munhoz, G., Noriler, D., Taranto, O. P. & Silva, J. L., JR. 2020. How chemical engineers can contribute to fight the COVID-19. J Taiwan Inst Chem Eng, 116, 67-80.

Shaaban AN, Peleteiro B and Martins MRO. COVID-19; what is next for Portugal 2020 Front. Public Health, 8: 392.

Tabatabaeizadeh, S. A. 2021. Airborne transmission of COVID-19 and the role of face mask to prevent it: a systematic review and meta-analysis. Eur J Med Res, 26, 1.

Tang, X. J., Zhang, Y., Liu, X. M., LI, J. J., Zhang, D. C., Zhang, F., Liu, P., Yuan, J., Li, Q., Hu, J. L., Chen, J. & Huang, A. L. 2020. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. Nat Med, 26, 845-848.

Turner, J. S., Kim, W., Kalaidina, E., Goss, C. W., Rauseo, A. M., Schmitz, A. J., Hansen, L., Haile, A., Klebert, M. K., Pusic, I., O'Halloran, J. A., Presti, R. M. & Ellebedy, A. H. 2021. SARS-CoV-2 infection induces long-lived bone marrow plasma cells in humans. Nature. 2021 Jul;595(7867):421-425

Wenhan, C., Smith, J., Morgan R. COVID-19: the gendered impacts of the outbreak. The Lancet, 39510227, 846-848, 2020.

O Papel dos testes Serológicos para detecção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

WHO. 2020. Rational use of personal protective equipment for coronavirus disease 2019 (COVID-19). Interim guidance, 27February, 2020. Disponível em:https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/331215/WHO-2019-nCov-IPCPPE_use-2020.1-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em 27 de março de 2020

Zhao J, Yuan Q, Wang H, Liu W, Liao X, Su, Y, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. Clin Infect Dis. 2020;71:2027-34

O Papel dos testes Serológicos para deteção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

Anexos

O Papel dos testes Serológicos para deteção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

Anexo I – Provas do artigo

International Journal of Research in Medical Sciences
Carvalho PM et al. *Int J Res Med Sci.* 2021 Sep;9(9):2568-2572
www.msjonline.org

pISSN 2320-6071 | eISSN 2320-6012

DOI: <https://dx.doi.org/10.18203/2320-6012.ijrms20213393>

Original Research Article

What did we learn after the 2020 pandemic? Seroprevalence of SARS-CoV-2 infection in a North region of Portugal during 3rd lockdown

Paula M. Carvalho¹, Sandra C. Soares², Ana R. Castro^{2*}

¹School of Pharmacy, Faculty of Health Sciences, Fernando Pessoa University, Porto, Portugal

²Faculty of Health Sciences, Fernando Pessoa University, Porto, Portugal

Received: 20 June 2021

Revised: 19 July 2021

Accepted: 20 July 2021

*Correspondence:

Dr. Ana R. Castro,

E-mail: ritac@ufp.edu.pt

Copyright: © the author(s), publisher and licensee Medip Academy. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License, which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT

Background: Serological studies of antibody prevalence in response to infection with the acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) are useful to monitor the epidemic progression of the disease and to evaluate infection rates. In this study, we estimated the prevalence of anti-SARS-CoV-2 antibodies (IgM and IgG) in a Portuguese sub-district, during National lockdown - January-March 2021.

Methods: In the seroepidemiological survey participants were tested for SARS-CoV-2 antibodies (IgM and IgG), in blood samples. The estimated seroprevalence and results were stratified by age, gender, education, occupational exposure, symptoms and previous SARS-CoV-2 infection.

Results: Seroprevalence was 41.3%, (15.7% IgG positive, 11.6% IgM positive and 14% positive for both). The majority (74%) of the participants were working presentially and did the serological assay because they had either symptoms / positive contact (90%) or had a previous positive antigen test (36%). From all the seropositive cases only 44% were symptomatic. Our results show that seroprevalence of SARS -CoV-2 is high in the North, in parallel with the National Surveillance System. Seroprevalence was higher in woman than man and in adults older than 21. Almost all the people with symptoms or a positive contact had a positive test and were working at their regular places of work reflecting the danger of occupational exposure.

Conclusions: These results suggest that, between January and March 2021, the restriction conditions were effective but unable to stop SARS-CoV-2 epidemic. It is essential to assess SARS-CoV-2 seroprevalence to monitor population immunity and if it lasts, specially from new COVID 19 variants.

Keywords: SARS-CoV2 infection, Seroprevalence, Portugal, Public health, Antibody response, COVID-19

INTRODUCTION

The infection by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) achieved a pandemic situation worldwide resulting in an elevated number of deaths.¹ Portugal adopted general lockdown restrictions due to the third epidemic wave of SARS-CoV-2 that caused in the 1st week of January 2021 a peak of 20.1% deaths.² It was not allowed to circulate in public spaces and

roads, with the exception of authorized travel. The schools and all non-essential economic services were closed and according to Portuguese government recommendations, anyone who could work from home should do so.³

Last year, after the first epidemic wave, the early containment measures lead to a large reduction in the number of cases/deaths by COVID-19, comparing to other European countries, like Italy and Spain.⁴ However, after

O Papel dos testes Serológicos para deteção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

Carvalho PM et al. *Int J Res Med Sci.* 2021 Sep;9(9):2568-2572

this period, there was no further plans to prevent a new outbreak, like epidemiologic surveillance and mass test screening. Serologic studies evaluating SARS-CoV2 prevalence were scarce making difficult to predict new outbreaks.^{5,6} By November 18th, the relaxation in lockdown measures added to the fact that community surveillance was under-estimated caused a second peak in the numbers of deaths by COVID-19.⁷ The implementation of the essential surveillance WHO strategies for COVID 19 recommended were not adapted to the country reality (WHO, 2020).⁸ In this context, surveillance was limited to RT-PCR antigen SARS-CoV2 testing, only available at hospital/primary care clinics for symptomatic patients. The general population had to pay private testing which was very expensive at the time. Though, there was a big proportion of asymptomatic patients that contributed to the transmission. As a consequence, by March 2021 Portugal reached the third epidemic wave.⁷ By this time, other diagnostic tests were available, such as serologic tests, more affordable and accessible for the community. Nevertheless, the reality of the confirmed cases and progression of the virus was affected by the high regional heterogeneity in the country, being the north of Portugal, particularly affected.⁹

Serological assays are included in surveillance studies, not only to evaluate antibody presence against SARS-CoV-2 in population, but also to monitor long-lasting immunity.¹⁰ They are particularly important in the context of epidemiologic studies and in the case of SARS COV 2 infection can be used in the surveillance of asymptomatic carriers.¹¹

According to WHO the seroepidemiologic investigation should be adapted to each country, to understand if the restrictive conditions are in line with the strategy adopted, at least until global vaccination occurs.¹²

In this study, our aims were to access the seroprevalence of anti-SARS-CoV-2 antibodies (IgM and IgG) in four parishes of Sto Tirso sub-district, in the North of Portugal, during confinement measures (22nd January-16th March 2021). We aimed to evaluate if restriction conditions were effective and in the cases of infection if seroconversion occurred.

METHODS

The study was conducted in a Community pharmacy-Farmácia Popular, S. Martinho do Campo, with 121 participants, belonging to four parishes of St^o Tirso Sub-district, an area of 27.15 km² and 18 294 habitants (Figure 1), from January to March 2021.

The selection criteria of the participants were all the people who came to the Community pharmacy to perform serological tests for COVID- 19, asked to participate in the study and to complete the questionnaire. This one covered their main demographic characteristics, work situation, information about contact with COVID19 positive cases,

signs and symptoms of infection and previous positive SARS-CoV2 infection. The symptoms considered in the survey were fever, headache, caught, dyspnea, and asthenia. The pre-existing comorbidities were also analyzed: hypertension, diabetes, cardiovascular diseases, respiratory, auto-immune and oncologic diseases.

Fingertip blood samples were collected and the presence of IgM and IgG against SARS-CoV2 was determined using a commercial lateral flow assay (OnSite™). The test, according to manufacturer's information, has a sensitivity 96.86% and a specificity of 99.39%.

Study type

The type of the study was descriptive and analytical.

Data analysis

Descriptive statistics was performed for each of the variables: age, gender, education, occupational exposure and COVID19 symptoms after a contact or positive previous test. We determined seroprevalence as the proportion of the population who had a positive result for IgM and/or IgG. The frequency of the qualitative variables according to seroprevalence was expressed as a percentage.

Informed consent and ethical approval

Each participant gave written informed consent before participation in the seroepidemiological study, except the ones younger than 18 years old that had parents' legal consent. The study received Ethical approval from the Ethics Commission of Health Sciences Faculty, Fernando Pessoa University in Oporto.

RESULTS

In the study performed between 22th January 2021 and 16th March 2021, there were 121 participants.

Overall 68 (56.2%) participants were woman and 53 (43.8%) were man. Seven (5.8%) were aged<20 years, 54 (44.6) were aged [21-40] years, 39 (32.2%) were aged [41-60], 18 (14.9%) were aged [61-80] and 3 (2.5%) were older than 80 years. Regarding education levels, 86 (69.1%) had Basic formation and the others, 35 (28.9%), had higher education. Of all participants, 60 (49.6%) reported symptoms compatible with SARS-CoV-2 infection, 46 (38%) reported contact with a positive case and the remain 15 (12.4%) were curious about their serologic profile. Eighty-five (70 %) of the participants worked presentially and 36 (30%) worked from home (Table 1).

Seroprevalence of SARS-CoV-2 infection (positive for IgM and/or IgG) was 50 (41.3%): 15.7% IgG positive, 11.6% IgM positive and 14% positive for both IgM and IgG (Table 2). Overall, seroprevalence was higher in women 60% compared to men (40%). Considering groups

O Papel dos testes Serológicos para detecção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

Carvalho PM et al. *Int J Res Med Sci.* 2021 Sep;9(9):2568-2572

of age, seroprevalence was higher among individuals between 21 and 60 years old (80%), comparing with participants older than 61 years (14%) and younger than 21 years old (6%).

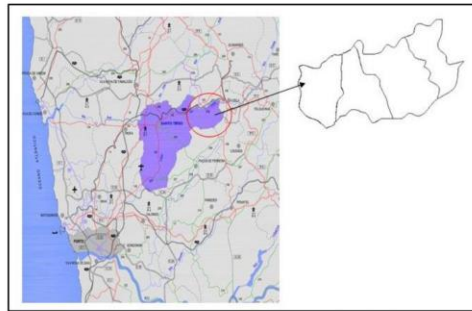


Figure 1: Geographical location of the sample collection area.

Table 1: Sample characterization regarding gender, age, education, motivation to do the test and occupational exposure.

Characteristics	N	Percentage
Gender		
Female	68	56.2
Male	53	43.8
Age group		
≤20	7	5.8
21-40	54	44.6
41-60	39	32.2
61-80	18	14.9
≥81	3	2.5
Education level		
Basic education	86	69.1
Higher education	35	28.9
Motivation to do the test		
Symptoms compatible with SARS-CoV-19 infection	60	49.6
Contact with a COVID 19 - positive case	46	38
Curiosity about serologic profile	15	12.4
Occupational exposure		
Working presentially	85	70
Working from home	36	30

The IgG and/or IgM positive cases belong to the group of people working presentially (74%). From the total of positive cases, 44% had symptoms of SARS-CoV-2 infection and 46% had contact with an infected person. Among the seropositive cases, 36% had a previous SARS-CoV-2 positive test. This one was done in January/February 2021 (33,3% of the cases) or during

2020 (66,7%). Considering only the cases IgM and IgG positive all had a previous SARS-CoV-2 positive test, although half of them tested positive before the study survey.

Table 2: Anti-SARS-CoV-2 IgG and IgM seroprevalence.

Characteristics	IgG n (%)	IgM n(%)	IgG and IgM n (%)
Overall sample	19 (15.7)	14 (11.6)	17 (14)
Gender			
Female	16 (32)	6 (12)	8 (16)
Male	3 (6)	8 (16)	9 (18)
Age group			
≤20	0 (0)	1 (2)	2 (2)
21-60	16 (32)	12 (24)	12 (24)
≥61	3 (6)	1 (2)	3 (6)
Education levels			
Basic education	10 (20)	10 (20)	11 (22)
Higher education	9 (18)	4 (8)	6 (12)
Occupational exposure			
Working presentially	16 (32)	11 (22)	10 (20)
Working from home	3 (6)	3(6)	7 (14)
Motivation to do the test			
Symptoms compatible with SARS-CoV-2 infection	7 (14)	3 (6)	12 (24)
Contact with a COVID 19-positive case	7 (14)	11 (22)	5 (10)
Curiosity	5 (10)	0 (0)	0 (0)

From all, only 36% presented specific comorbidities, namely hypertension, diabetes and cardiovascular diseases but also 35% of the negative cases did.

DISCUSSION

Our results depict the effects of the third epidemic wave and comparing to 2020 the effect of the total lockdown in a country with several affected areas, especially in the North.

The 43% of seroprevalence of SARS-CoV-2 observed in this study, concerning only a sub-district of Portugal, actually reflect the high levels of infection and, consequently, the mortality numbers officially referred for the north of the country.^{9,13} In the North, particularly in non-urban areas, there are major industries that require in person work, though the risk of exposure to SARS-CoV-2 is always big.^{14,15} Also, this can relate to a higher level of risk factors (comorbidities) or just due to the population size.

O Papel dos testes Serológicos para detecção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

Carvalho PM et al. *Int J Res Med Sci.* 2021 Sep;9(9):2568-2572

Seroprevalence was higher in woman than man, a difference of 20%, although there isn't report of gender differences in the proportion rates of people with COVID-19; in fact, males have a high rate of mortality after infection.¹⁶ This may reflect the occupational exposure and the disproportion that exist between woman and men working in essential sectors like factory workers, grocery store workers and retail.¹⁷ When looking to seroprevalence by age group, in spite of reports that make no association between them⁵, we have a high seroprevalence in individuals between 21 and 60 years as reported by Pagani.¹⁸ It can suggest that in younger people the susceptibility to infection is lower, explained by the fact that ACE receptors expression increases with age and by the lockdown measures imposed by the government.^{19,20} In people older than 61 seroprevalence decreased. As a high-risk group they maintained a strict isolation during this period, waiting for the vaccine to SARS-CoV 2 to be available for them which started in February 2021. Another hypothesis is the lower capacity to generate immunity in older ages, even with the vaccine.²¹

The occupational exposure of the participants resulted in a higher seroprevalence (74%) versus 26% in remote work, in concurrence with several authors.^{17,22} Occupational exposure results from higher exposure to infections- health care workers or from working in the proximity of others. Particularly, in our study, there was an elevated number of workers of essential industries and services (grocery, retail and pharmacy/dentist assistants) We can attribute the higher percentages of infection to close proximity without effective protection from the virus infection.¹⁷ This is also supported by the number of positive cases belonging to participants with basic education (69,1%). Most of them are factory workers, grocery, retail and pharmacy/dentist assistants, exceptions during lockdown restrictions.

Concerning the motive to perform the serologic test 44% of the positive cases presented symptoms compatible with SARS-CoV 2 infection such as cough, dyspnea, asthenia and others 46% of the positive cases had risk contacts, either at work or at home. Our results support the importance of social distancing as one of the most effective means to stop transmission of the virus.

Of notice, if we consider that 44% of the seropositive participants were symptomatic that means that 56% were asymptomatic overlooking the infection and could have transmitted it. The asymptomatic carriers were previously recognized has having an important role in the spread of the pandemic.^{11,23} For that, countries like Luxembourg adopted strategies like mass screening of the population by RT-PCR in parallel with the slow relieve of the restriction measures after lockdown.²⁴ The fact that the asymptomatic persons are carriers of the infection can mean that serologic tests have to be rethought because the dynamics of SARS-CoV 2 infection is still poorly understood.¹⁰ When asked about previous positive antigen test for SARS COV2, in the total of seropositive cases, 36% had already have a previous infection, detected either in January-

February 2021 (33,3%) or before, during 2020 (66,7%). Although confirmation is necessary, this shows that seroconversion occurred as expected.²⁵

When we analyzed IgM and IgG positive cases alone, they all had a previous SARS-CoV-2 positive test, half of them in January/February 2021, before the study survey. In our opinion, the ones that had a positive test in 2021 are in fact in the period of seroconversion. The other ones we can speculate that they represent cases of re-infection or maybe cross-reactivity. Given that cross reactivity has been shown in serological testing depending of patients with COVID-19 to nucleocapsid antigens of others SARS-CoV.^{26,27} The percentage of positive cases with specific comorbidities (36%) was similar to the other participants with negative serology (35%). Thus, the prevalence of chronic conditions overall was concurrent with the Portuguese population: hypertension, cardiovascular diseases and diabetes.¹⁵

Serological tests provide the first line of information of the immune response to SARS-CoV2. As mentioned before, being available and cheap for the majority of the population, many of the participants choose to do this test. After March 2021, the rapid antigen tests were available with relative accessible prices for the general population. Still, while mass screening of the population for SARS-CoV2 antigen is not viable serologic tests can constitute the first approach for infection detection.

We are aware of the limitations of this study, namely the relatively small sample size that reflects the period of the study. Note that at that time, Portugal was in a lockdown period and rapid antigens tests of SARS-CoV2 were not yet available in the pharmacies. Also, the study is focused on a particular region of Portugal, a non-urban northern area, thus not representing the general population. Considering serologic test itself, IgM positive cases been confirmed by RT-PCR under the national health system protocols, but we did not had access to that information.

CONCLUSION

These results suggest that in the period of study (January-March 2021) the restriction conditions were effective and seroconversion occurred. It is essential to study SARS-CoV-2 seroprevalence to monitor population immunity, special asymptomatic cases, and transmission. Nevertheless, also massive screening antigen tests are needed to decide the next strategies to adopt after lockdown. It is also urgent to establish if this immunity is long lasting and protects population from new COVID 19 variants. The vaccine introduction in February 2021 to the general population was a step to stop the disease transmission.

Funding: No funding sources

Conflict of interest: None declared

Ethical approval: The study was approved by the Institutional Ethics Committee

O Papel dos testes Serológicos para deteção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

Carvalho PM et al. *Int J Res Med Sci.* 2021 Sep;9(9):2568-2572

REFERENCES

1. World Health Organization. 2020. <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>. 2020. Accessed on 24th May, 2021.
2. Instituto Nacional Estatística. https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_destaques&DESTAQUESdest_boui=473839541&DESTAQUESmodo=2&xlang=pt, 2021. Accessed on 20th May, 2021.
3. Diário da República (DR). <https://data.dre.pt/eli/dec-lei/6-A/2021/01/14/p/dre>, 2021. Accessed on 26th May 2021.
4. Ricoca-Peixoto V, Vieira A, Aguiar P, Carvalho C, Thomas DR, Abrantes A. Initial Assessment of the Impact of the Emergency State Lockdown Measures on the 1st Wave of the COVID-19 Epidemic in Portugal. *Acta Med Por.* 2020;33:733-41.
5. Kislaya I, Gonçalves P, Barreto M, Sousa R, Garcia AC, Matos R, et al. Seroprevalence of SARS-CoV-2 Infection in Portugal in May-July 2020: Results of the First National Serological Survey (ISNCOVID-19). *Acta Med Por.* 2021;34:87-94.
6. Meireles P, Amaro J, Costa JP, Lopes MM, Varandas T, Norton P, et al. Prevalence of SARS-CoV-2 antibodies among workers of the public higher education institutions of Porto, Portugal. 2021 MedRxiv.
7. Direção Geral de Saúde. https://covid19.min-saude.pt/wp-content/uploads/2020/12/304_DGS_boletim_20201231-002.pdf, 2020. Accessed on 26th May 2021.
8. World Health Organization. 2020. WHO-2019-nCoV-SurveillanceGuidance-2020.8-eng.pdf. 2020. Accessed on 15th May 2021.
9. Instituto Nacional de Estatística. 2021. https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_destaques&DESTAQUESdest_boui=491304080&DESTAQUESmodo=2, 2021. Accessed on 24th May 2021.
10. Peeling R, Wedderburn CJ, Garcia PJ, Boeras D, Fongwen N, Nkengasong J, et al. Serology testing in the COVID-19 pandemic response. *Lancet.* 2020;20:E245-9.
11. Arons MM, Hatfield KM, Reddy SC, Kimball A, James A, Jacobs JA, et al. Presymptomatic SARS-CoV-2 infections and transmission in a skilled nursing facility. *N Engl J Med.* 2020;382:2081-90.
12. World Health Organization. Seroepidemiological investigation protocol for coronavirus 2019 (COVID-19) infection, 2020. <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-Seroepidemiology-2020>. Accessed on 19th May, 2021.
13. Shaaban AN, Peleteiro B, Martins MRO. COVID-19; what is next for Portugal 2020 *Front. Public Health.* 2020;8:392.
14. Laires PA, Nunes C. Population-based Estimates for High Risk of Severe COVID-19 Disease due to Age and Underlying Health. *Acta Med Port.* 2020;33:720-5.
15. Laires PA, Perelman J. The current and projected burden of multimorbidity: a cross sectional study in a Southern Europe population. *European Journal of Ageing.* 2019;16:181-92.
16. Peckham H, Gruijter NM, Raine C. Male sex identified by global COVID-19 meta-analysis as a risk factor for death and ITU. *Nature Communication.* 2020;11:6317.
17. Gaitens J, Condon M, Fernandes E, McDiarmin M. COVID-19 and essential workers: a narrative review of health outcomes and moral injury *Int J Environ Res Public Health.* 2021;18:144601.
18. Pagani G, Conti F, Giacomelli A, Bernacchia D, Rondanin R, Prina A, et al. Seroprevalence of SARS-CoV-2 significantly varies with age: Preliminary results from a mass population screening. *Journal of Infection.* 2020;81:e10-2.
19. Bourgonje AR, Abdulle AE, Timens W, Hillebrands J-L, Navis GJ, Gordijn SN et al. Angiotensin-converting enzyme-2 (ACE2), SARS-CoV-2 and pathophysiology of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *J Pathol.* 2020;251:228-48.
20. Li Y, Zhou W, Yang L, You R. Physiological and pathological regulation of ACE2, the SARS-CoV-2 receptor. *Pharmacol Res.* 2020;157:104833.
21. Pawelec G and Weng NP. Can an effective SARS-CoV-2 vaccine be developed for the older population? *Immun Ageing.* 2020;17:8.
22. Hawkins D. Differential occupational risk for COVID-19 and other infection exposure according to race and ethnicity. *Am J Ind Med.* 2020;63:817-20.
23. Ganghi M, Yokoe DS, Havlir D. Asymptomatic Transmission, the Achilles' Heel of Current Strategies to Control Covid-19. *N Engl J Med.* 2020;382:2158-60.
24. Wilmes P, Zimmer J, Schultz J, Glod F, Veiber L, Mombaerts L, et al. SARS-CoV-2 transmission risk from asymptomatic carriers: Results from a mass screening programme. *Luxembourg.* 2021;4:100056.
25. Zhao J, Yuan Q, Wang H, Liu W, Liao X, Su, Y, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. *Clin Infect Dis.* 2020;71:2027-34.
26. Long Q-X, Liu B-Z, Huang A-L. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19 *Nature Medicine.* 2020;26:845-8.
27. Okba NMA, Muller MA, Li E, Wang C, Kessel CH, Corman VM et al. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2-Specific Antibody Responses in Coronavirus Disease Patients. *Emerging Infectious Diseases.* 2020;26:1478-88.

Cite this article as: Carvalho PM, Soares SC, Castro AR. What did we learn after the 2020 pandemic? Seroprevalence of SARS-CoV-2 infection in a North region of Portugal during 3rd lockdown. *Int J Res Med Sci* 2021;9:2568-72.

COVID-19

MEDIDAS GERAIS

HIGIENE DAS MÃOS

Lave frequentemente as mãos com água e sabão ou use uma solução à base de álcool.



ETIQUETA RESPIRATÓRIA

Quando espirrar ou tossir, tape o nariz e a boca com um lenço de papel ou com o braço, mesmo se tiver máscara.



USO DE MÁSCARA

Use a máscara:

- em espaços fechados
- em locais abertos quando não for possível manter a distância de segurança.



SE TIVER SINTOMAS

Não vá trabalhar.
Caso o seu filho tenha sintomas, não o leve à escola.
Evite sair à rua se estiver doente.



DISTANCIAMENTO FÍSICO

Mantenha a distância de 2 metros das outras pessoas.



REDUÇÃO DE CONTACTOS

Sempre que possível, limite o número de contactos físicos com outras pessoas.



VENTILAÇÃO DOS ESPAÇOS

Mantenha os espaços bem arejados. Opte por ventilação natural.



LIMPEZA DAS SUPERFÍCIES

Limpe e desinfete as superfícies com frequência.



SE TIVER ALGUM DOS SEGUINTE SINTOMAS:



TOSSE



FEBRE



DIFICULDADE RESPIRATÓRIA



PERDA OU DIMINUIÇÃO DO OLFATO OU PALADAR

LIGUE
SNS 24

808 24 24 24

#SEJAUMAGENTEDESUADEPUBLICA
#ESTAMOSON
#UMCONSELHODAGS



O Papel dos testes Serológicos para deteção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

Anexo III – Consentimento informado

DECLARAÇÃO DE CONSENTIMENTO

Considerando a "Declaração de Helsinquia" da Associação Médica Mundial (Helsinquia 1964; Tóquio 1975; Veneza 1983; Hong Kong 1989; Somerset West 1996 e Edimburgo 2000)

Designação do Estudo (em português):

O papel dos testes serológicos para deteção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região norte

Eu, abaixo-assinado, (nome completo do doente ou voluntário são) _____

_____, compreendi a explicação que me foi fornecida acerca da minha participação na investigação que se tenciona realizar, bem como do estudo em que serei incluído. Foi-me dada oportunidade de fazer as perguntas que julguei necessárias e de todas obtive resposta satisfatória.

Tomei conhecimento de que, de acordo com as recomendações da Declaração de Helsinquia, a informação ou explicação que me foi prestada versou os objectivos e os métodos e, se ocorrer uma situação de prática clínica, os benefícios previstos, os riscos potenciais e o eventual desconforto. Além disso, foi-me afirmado que tenho o direito de recusar a todo o tempo a minha participação no estudo, sem que isso possa ter como efeito qualquer prejuízo pessoal.

Por isso, consinto que me seja aplicado o método ou o tratamento, se for caso disso, propostos pelo investigador.

Data: 13 / Dezembro / 2020

Assinatura do doente ou voluntário são: _____

O Investigador responsável:

Nome: Paula Fátima da Silva Carvalho

Assinatura: Paula Carvalho

Comissão de Ética da Universidade Fernando Pessoa

O Papel dos testes Serológicos para deteção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte

Anexo IV - Inquérito preenchido por cada utente

**INQUÉRITO NO ÂMBITO DA CONCLUSÃO DO MESTRADO INTEGRADO EM
CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DA FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE, UNIVERSIDADE FERNANDO PESSOA**

**O PAPEL DOS TESTES SEROLOGICOS PARA DETEÇÃO DE ANTICORPOS DAS CLASSES IgG E IgM AO
SARS COV-2 NUMA COMUNIDADE DA REGIÃO NORTE**

Género: Masculino: Feminino:

Idade: _____

Nacionalidade: _____

Localidade de Residência: _____

Escolaridade:

- Primária:
 Secundária:
 Bacharelato:
 Licenciatura:
 Mestrado ou Doutoramento:

Profissão: _____

A trabalhar presencialmente:

Sim: Não:

Já fez algum teste COVID 19-positivo?

Sim: Não:

Se sim:

O resultado foi positivo? Sim: Não:

Quando foi diagnosticado? _____

Quais os sintomas sentidos? _____

Sabe onde foi infetado? Sim Não:

Mais alguém do seu agregado familiar esteve positivo: Sim: Não:

Historial clínico

(Selecionar Sim ou Não se tem ou teve algumas das doenças referidas)

	Sim	Não
Doenças cardiovasculares		
Hipertensão		
Diabetes		
Problemas oncológico		
Doenças respiratórias		
Doenças auto-ímmunes		
Doenças renais		
Doenças neurológicas		
Outras		

Toma medicação diariamente?

Sim: Não:

Se sim, qual? _____

Motivo da realização do teste serológico: _____

O Papel dos testes Serológicos para deteção de anticorpos das classes IgG e IgM ao SARS-CoV-2 numa comunidade da região Norte