

Inquérito Serológico Nacional COVID-19 (4.^a fase)

Relatório de apresentação dos resultados



Agosto de 2022

Relatório de Apresentação dos Resultados
Inquérito Serológico Nacional COVID-19 (4ª fase)

31 de agosto de 2022

Instituições Parceiras

Associação Nacional de Laboratórios Clínicos, Associação Portuguesa de Analistas Clínicos, Unidade Local de Saúde (ULS) do Nordeste, Centro Hospitalar (CH) de Alto Douro e Trás-os-Montes, CH Universitário de São João, ULS Alto Minho, Hospital Senhora da Oliveira, Hospital Santa Maria Maior, ULS Matosinhos, CH Universitário de Coimbra, CH Tondela-Viseu, ULS Guarda, ULS Castelo-Branco, CH Cova da Beira, CH Leiria, CH Médio-Tejo, Hospital Distrital de Santarém, CH Oeste, Hospital Beatriz Ângelo, Hospital Professor Doutor Fernando da Fonseca, Hospital de Vila Franca de Xira, CH Lisboa Ocidental, CH Lisboa Central, CH Barreiro-Montijo, CH Setúbal, ULS do Litoral Alentejano, ULS Norte Alentejano, Hospital Espírito Santo, ULS Baixo Alentejo, CH Universitário do Algarve - Hospital de Faro e Hospital de Portimão, Hospital do Divino Espírito Santo, Hospital Santo Espírito da Ilha Terceira, Hospital da Horta, Unidade de Saúde da Ilha das Flores, Unidade de Saúde da Ilha do Pico, Unidade de Saúde da Ilha de S. Jorge, Unidade de Saúde da Ilha Graciosa, Hospital Dr. Nélio Mendonça.

Lista de Siglas e Abreviaturas

ACES2: Enzima Conversora da Angiotensina 2
ANL: Associação Nacional dos Laboratórios Clínicos
APAC: Associação Portuguesa de Analistas Clínicos
COVID-19: Doença pelo vírus SARS-CoV-2
DGS: Direção Geral da Saúde
ELISA: Imunoensaio Enzimático Competitivo
IC 95: Intervalo de Confiança a 95 %
IgG: Imunoglobulina do tipo G
INSA: Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge
ISN COVID-19: Inquérito Serológico Nacional COVID-19
LVT: Lisboa e Vale do Tejo
NP: Proteína da Nucleocápside
NUTS: Nomenclatura das Unidades Territoriais para Fins Estatísticos
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
RDB: *Receptor Binding Domain*
S: Proteína da Espícula
UA: Unidades Arbitrárias
UI: Unidades Internacionais

Pontos em Destaque

- A seroprevalência de anticorpos específicos contra SARS-CoV-2 na população residente em Portugal foi de 95,8 %, valores consistentes com a cobertura vacinal e com a situação epidemiológica nacional. Este valor foi cerca de 10 % superior ao valor estimado no último trimestre de 2021.
- Manteve-se o padrão geográfico das anteriores fases do ISN COVID-19, com menor seroprevalência na região do Algarve (91,7 %), provavelmente relacionada com menor cobertura vacinal na região.
- Os grupos etários abaixo dos 10 anos foram aqueles nos quais se observou uma menor seroprevalência (76,2 % entre os 0-4 anos; 78,7 % entre os 5-9 anos). As crianças com idade inferior a 5 anos não são elegíveis para vacinação contra a COVID-19 e muitas das que têm entre os 5 e os 9 anos não foram vacinadas ou não completaram a primovacinação, pelo que estes resultados são compatíveis com elevada taxa de ataque nestes grupos durante as últimas ondas de COVID-19.
- Observou-se um aumento da prevalência de anticorpos IgG (anti-NP) e IgG (anti-S), o que é consistente com a incidência de COVID-19 muito elevada do primeiro semestre de 2022.
- Os títulos de IgG (anti-S) foram mais elevados no grupo etário 50-59 anos (mediana: 7.669,3 UA/ml) e no grupo com IgG (anti-NP) positiva (mediana: 9.233,6 UA/ml).
- O grupo etário com mais de 70 anos foi o grupo da população adulta com menor título de IgG (anti-S) (mediana: 4.558,5 UA/ml) e de anticorpos neutralizantes (mediana: 1.490,3 UI/ml).
- Manteve-se uma forte correlação positiva ($\rho = 0,9$) entre o título de IgG (anti-S) e o título de anticorpos neutralizantes.
- Os resultados obtidos corroboram as atuais recomendações de vacinação em Portugal, isto é, a necessidade de cumprir os esquemas vacinais em todas as idades e independentemente de ocorrência de infeção anterior e a realização de segunda dose de reforço nos grupos mais velhos e vulneráveis.

Resumo

Dando continuidade ao trabalho de monitorização da prevalência de anticorpos contra a COVID-19, iniciado em maio de 2020, o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA), em colaboração com a Associação Nacional de Laboratórios Clínicos (ANLC), a Associação Portuguesa de Analistas Clínicos (APAC) e vários Hospitais do Serviço Nacional de Saúde (SNS), implementou a quarta fase do Inquérito Serológico Nacional à COVID-19 (ISN-COVID 19). Estes inquéritos são úteis como indicadores da imunidade populacional, contribuindo para a avaliação de risco e adequação das medidas a implementar, nomeadamente, no que se refere as recomendações da vacinação contra a COVID-19.

Na quarta fase do ISN COVID-19 foram recolhidas amostras de soro de 3.825 indivíduos de todas as idades, recrutados entre 27 de abril e 8 de junho de 2022, em 178 postos de colheita previamente selecionados, distribuídos por todo o país. Seguindo as orientações técnicas da Organização Mundial de Saúde e do Centro Europeu de Prevenção e Controlo de Doenças foram usados remanescentes de soros para determinação dos anticorpos específicos para o SARS-CoV-2. Para todas as amostras foi realizada a determinação qualitativa de imunoglobulinas (Ig) do tipo G específicas contra a proteína da nucleocápside do SARS-CoV-2 [IgG (anti-NP)] e a determinação quantitativa de IgG contra a proteína da espícula do SARS-CoV-2 [IgG (anti-S)]. Adicionalmente, para uma amostra aleatória de 351 amostras com IgG (anti-S) positiva foi feita a determinação quantitativa de anticorpos neutralizantes.

A seroprevalência total na população em estudo foi de 95,8 %, mantendo-se um padrão regional semelhante ao das fases anteriores do ISN COVID-19, isto é, estimou-se uma menor seroprevalência na região do Algarve (91,7 %). Os grupos etários abaixo dos 10 anos foram aqueles em que se observaram seroprevalências mais baixas (76,2 % entre os 0-4 anos e 78,7 % entre os 5-9 anos).

No que se refere à seroprevalência IgG (anti-NP), estimaram-se valores globalmente mais elevados do que os obtidos nas fases anteriores do ISN COVID-19 (27,3 %).

Os títulos de IgG (anti-S) foram mais elevados no grupo etário 50-59 anos (mediana: 7.669,3 UA/ml) e no grupo com IgG (anti-NP) positiva (mediana: 9.233,6 UA/ml), tendo sido mais baixos nos grupos abaixo dos 10 anos de idade (mediana: 180,4 UA/ml entre 0-4 anos e mediana: 426,6 UA/ml entre 5-9 anos). Nos adultos, o grupo com 70 ou mais anos foi aquele com menor valor de IgG (anti-S) (4.558,5 UA/ml).

Observou-se uma forte correlação positiva ($p=0.90$) entre os anticorpos neutralizantes e os anticorpos do tipo IgG (anti-S).

Como conclusão, destacamos a elevada seroprevalência na população portuguesa entre abril e junho de 2022, sendo esta mais elevada do que a observada no final de 2021. Os grupos com menor seroprevalência e menor concentração de anticorpos neutralizantes são os grupos abaixo dos 10 anos e acima dos 70 anos, estando estes resultados de acordo com a situação epidemiológica nacional observada no primeiro semestre de 2022. Por outro lado, suportam as recomendações nacionais para que todas as pessoas completem os esquemas vacinais de acordo com as orientações nacionais, mesmo quando previamente infetadas, e que os grupos mais idosos e vulneráveis sejam elegíveis para segunda dose de reforço.

Índice

1. Introdução	8
2. Objetivos.....	10
3. Material e Métodos	11
4. Resultados	15
5. Discussão	22
6. Referências Bibliográficas	25

1. Introdução

O coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2 (SARS-CoV-2), que causa a doença por coronavírus 2019 (COVID-19), foi detetado pela primeira vez em Wuhan, na China, em dezembro de 2019 (Huang, Wang et al, 2020), espalhando-se rapidamente pelo mundo, causando perto de 530 milhões de casos de infeção confirmada e mais de 6 milhões de mortes até ao final de maio de 2022 (Hopkins, 2020) e levando a um impacto nos sistema de saúde sem precedentes.

Em Portugal, o primeiro caso confirmado de COVID-19 foi notificado no dia 2 de março de 2020 e até 8 de junho de 2022 (data de conclusão do trabalho de campo da quarta fase do ISN COVID-19) foram notificados 4.917.127 casos e 23.531 óbitos por COVID-19 (Direção Geral da Saúde, 2022). Nestes dois anos, a epidemia tem evoluído na forma de diferentes ondas com intensidades e impactos variáveis, devido às medidas de mitigação e controlo implementadas ao longo do tempo, ao aumento da cobertura vacinal e alargamento dos grupos vacinados, e às características das variantes de SARS-CoV-2 que têm emergido desde o início da pandemia.

Num contexto de elevadas coberturas vacinais, o controlo da pandemia estará sobretudo dependente, da duração da imunidade e do surgimento de novas variantes que possam escapar à imunidade gerada por infeção ou vacinação anteriores, ou que possam induzir doença mais grave. Algumas destas variantes de preocupação, como a Beta, a Gamma e a Ómicron apresentam mutações que as tornam mais transmissíveis e menos suscetíveis à imunidade adquirida por infeção ou mediada por vacinas (Merad, Blish, Sallusto, & Iwasaki, 2022), o que justifica a magnitude muito elevada das ondas pandémicas observadas desde o final de 2021, apesar das elevadas coberturas vacinais. De acordo com a atual evidência, as infeções em pessoas vacinadas são predominantemente causadas por variantes de preocupação (Araf et al, 2022), no entanto, apesar da diminuição da efetividade das vacinas contra as novas variantes de preocupação, as vacinas atuais reduzem o número de casos que desenvolvem doença grave, mesmo em regiões onde estas variantes são dominantes (Abu-Raddad, Chemaitelly, & Butt, 2021, Kislaya, et al, 2022b, Kislaya, et al, 2022c).

No que respeita à variante de preocupação mais recente (Ómicron BA.5), detetada em Portugal na semana 13/2022 e dominante desde a semana 20/2022 (Direção Geral da Saúde e Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, 2022a), destaca-se a sua maior transmissibilidade em relação à variante Ómicron original (C. Chen et al, 2022) que condicionou o aumento do número de casos de COVID-19 durante os meses de maio e junho de 2022 (Direção Geral da Saúde e Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge 2022a), levando a que fosse recomendada, em maio de 2022, a segunda dose de reforço da vacina para as pessoas com mais de 80 anos e para os residentes em estruturas residenciais para idosos (Comissão Técnica de Vacinação contra a COVID-19, 2022).

Embora não exista um indicador correlacionado com a imunidade, e apesar da evasão imunológica das novas variantes de SARS-CoV-2, a nível populacional a presença de anticorpos anti-SARS-CoV-2 é preditiva de proteção imunológica (Earle et al, 2021; Khoury et al, 2021), pelo que os estudos de seroprevalência são indicativos dos níveis

de proteção populacional e, conseqüentemente, necessários para a modelação matemática de cenários, avaliação da implementação dos programas de vacinação e planeamento de políticas nacionais de saúde pública e de resposta à pandemia. Estes estudos são particularmente importantes quando implementados ao longo do tempo, permitindo a monitorização da seroprevalência numa mesma população. Na população mundial, a prevalência de anticorpos específicos contra o SARS-CoV-2 tem sido muito variável, em função das taxas de ataque e da implementação dos programas de vacinação (Azami, Moradi, Moradkhani, Aghaei, 2022, Bergeri, et al, 2022). Num estudo onde se encontravam representados cerca de metade dos Estados Membros da Organização Mundial de Saúde foi estimada, em julho de 2021, uma seroprevalência de 45,2 %, (IC 95: 40,7 a 49,8 %), correspondendo a um aumento de 8,2 vezes em relação à estimativa de junho de 2020 (5,5 %; IC 95: 3,0 a 9,6 %), sendo que a seroprevalência global atribuível à infeção foi de 35,2 % (IC 95: 33,3 a 37,1 %) (Bergeri, et al, 2022). Em agosto de 2021, a seroprevalência combinada na Europa foi de 72 % (IC 95: 55 a 84 %), o que corresponde a um aumento de 16 vezes desde junho de 2020 (Bergeri, et al, 2022). Em Portugal, na terceira fase do ISN COVID-19 (setembro a novembro de 2021) a seroprevalência estimada na população residente com mais de 1 ano de idade foi de 86,4 % (IC 95: 85,2 a 87,6 %), maioritariamente devida à vacinação (Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, 2021).

Com o objetivo de manter o trabalho de monitorização da seroprevalência de anticorpos específicos contra o SARS-CoV-2, iniciado em maio de 2020 (Kislaya, et al, 2021), o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA), através dos seus departamentos de Epidemiologia e de Doenças Infeciosas, em parceria com a Associação Nacional de Laboratórios Clínicos (ANL), a Associação Portuguesa de Analistas Clínicos (APAC) e vários Hospitais do Serviço Nacional de Saúde (SNS) realizou a quarta fase do ISN COVID-19, entre abril e junho de 2022.

2. Objetivos

Para a quarta fase do inquérito serológico nacional à COVID-19 (ISN COVID-19) foram definidos os seguintes objetivos:

1. Estimar a seroprevalência de anticorpos específicos para SARS-CoV-2, por grupo etário (0-4, 5-9, 10-19, 20-29, 30-39, 40-49, 50-59, 60-69, \geq 70 anos), sexo e Região [Norte, Centro, Lisboa e Vale do Tejo (LVT), Alentejo, Algarve, Região Autónoma (RA) dos Açores e RA da Madeira];
2. Determinar a seroprevalência de anticorpos adquirida após infeção pelo SARS-CoV-2 de forma a monitorizar a evolução de infeções recentes;
3. Caracterizar a distribuição do título dos anticorpos específicos e neutralizantes para SARS-CoV-2, de modo a monitorizar a evolução da imunidade contra SARS-CoV-2 na população.

3. Material e Métodos

3.1. Desenho do estudo e população alvo

Foi realizado um estudo epidemiológico observacional, transversal. A população alvo do estudo incluiu indivíduos de todas as idades residentes em Portugal (Continente e Ilhas).

3.2. Amostragem

À semelhança do realizado nas fases anteriores do ISN COVID-19, utilizou-se a uma amostragem não probabilística por quotas. A amostra planeada foi estratificada pelos seguintes grupos etários: 1-9, 10-19, 20-29, 30-39, 40-49, 50-59, 60-69, ≥ 70 anos. A dimensão de amostra foi determinada de modo a estimar uma seroprevalência pós-infeção esperada de 25 % com uma margem de erro de 5 % e considerando o efeito de desenho de 1,5. A amostra foi alocada por sexo, de forma proporcional à distribuição da população residente. A distribuição por região foi feita de forma a obter estimativas com a mesma margem de erro, em função da seroprevalência esperada a nível regional. A distribuição da amostra por NUT 3 foi proporcional à distribuição da população residente (Instituto Nacional de Estatística, 2022), sendo definidas as quotas por sexo e grupo etário para cada um dos laboratórios e hospitais participantes.

3.3. Instrumento de recolha de dados

Foi usado um formulário pré-codificado para recolha da data de colheita, concelho de residência, sexo e idade. O código do formulário era correspondente ao código da amostra. Não foi colhida qualquer informação que permitisse a identificação individual.

3.4. Trabalho de campo

Participaram no inquérito 16 Laboratórios de Patologia Clínica associados da ANLC e da APAC, e 36 Hospitais/Unidades de Saúde do SNS, num total de 178 postos da colheita, distribuídos de acordo com a Figura 1.

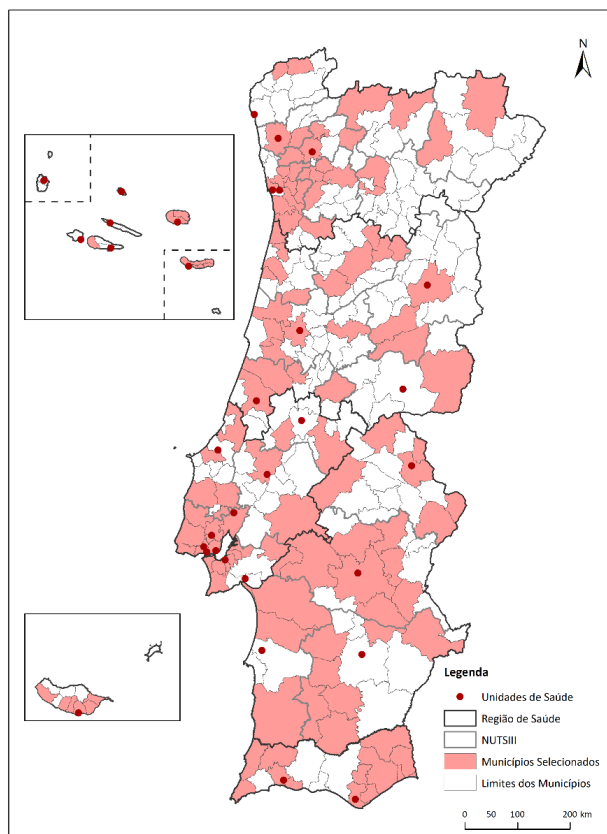


Figura 1. Distribuição geográfica dos postos de colheita da quarta fase do ISN COVID-19.

Foi feita a recolha dos soros remanescentes (1ml, mínimo: 250µl) de acordo com as quotas previamente definidas. O período de recolha decorreu entre 27 de abril e 8 de junho de 2022.

As amostras foram totalmente anonimizadas e identificadas com código pré-definido, sem existência de chave de identificação.

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 conservados a (-) 20°C e assim mantidos durante o transporte e até à sua análise.

3.5. Procedimentos laboratoriais

Para todas as amostras recolhidas foram realizados 2 testes diferentes:

- a. Ensaio qualitativo para a deteção de anticorpos IgG contra a proteína da nucleocápside (SARS-CoV-2 IgG I, Abbott Diagnostics, IL, USA), com concordância percentual dos positivos (> 14 dias após sintomas) de 100 % e concordância percentual dos negativos de 99,6 %, segundo dados do fabricante. Os resultados foram determinados como positivo ou negativo de acordo com os limiares de positividade, as especificações dos testes e recomendações do fabricante.

- b. Ensaio quantitativo para anticorpos IgG contra a subunidade 1 da proteína da espícula (SARS-CoV-2 IgG II Quant, Abbott Diagnostics, IL, USA), com concordância percentual dos positivos de 99,3 % (≥ 15 dias após sintomas) e concordância percentual dos negativos de 99,5 %, além de taxa de positividade de 98,1 % e 99,5 % após a primeira e segunda toma da vacina, respetivamente, para indivíduos sem infeção prévia, e de 100 % para indivíduos com infeção prévia . O limiar de positividade utilizado no *Kit* de deteção foi de 50 UA/ml, de acordo com as especificações do fabricante.

Foi aleatoriamente selecionado um grupo de 351 amostras com resultado IgG (anti-S) positivo para os quais foi feita a quantificação dos anticorpos neutralizantes pelo método de imunoensaio enzimático competitivo (ELISA) baseado na interação entre as proteínas viral [*Receptor-Binding Domain* (RBD), presente na subunidade S1 da proteína da espícula] e humana [Enzima Conversora da Angiotensina 2 (ACES2)], utilizando o *kit* TECO® SARS-CoV-2 *Neutralization Antibody Assay* (TECOmedical AG, Sissach, Switzerland), com sensibilidade e especificidade de 99,03 % e 100 %, respetivamente.

Todos os testes de serológicos foram realizados em laboratório de biossegurança de nível 2.

3.6. Definição de seroprevalência

Para efeitos do presente estudo foram consideradas as seguintes definições de seroprevalência:

Seroprevalência total de anticorpos específicos contra SARS-CoV-2: Proporção de soros com IgG específica para SARS-CoV-2 (anti-S e/ou anti-NP).

Seroprevalência de IgG (anti-NP): Proporção de soros com IgG (anti-NP) específica para SARS-CoV-2.

Seroprevalência de IgG (anti-S): Proporção de soros com títulos de IgG (anti-S) específica para SARS-CoV-2 acima de limiar de positividade do *Kit* de deteção utilizado (50 UA/ml).

Tendo em conta que as vacinas atualmente administradas em Portugal induzem uma resposta imunitária contra a proteína da espícula, nas populações com elevada cobertura vacinal a positividade para IgG (anti-NP) é um indicador de infeção prévia por SARS-CoV-2. Dado o padrão de decaimento destes anticorpos, consideramos que traduzem apenas a fração das infeções prévias mais recentes (Lumley, Wei, et al, 2021; Van Elslande, Gruwier, Godderis, & Vermeersch, 2021).

3.7. Análise estatística

A seroprevalência [(total, IgG (anti-S) e IgG (anti-NP))] para SARS-CoV-2 foi estimada para o total da população e estratificada por sexo, grupo etário (0-4, 5-9, 10-19, 20-29, 30-39, 40-49, 50-59, 60-69, ≥ 70 anos) e região (Norte, Centro, LVT, Alentejo, Algarve, RA da Madeira e RA dos Açores). Para todas as estimativas pontuais foram estimados os respetivos intervalos de confiança a 95 % (IC 95).

O teste Qui-quadrado de Rao-Scott (Rao & Scott, 1987) foi utilizado para comparar as estimativas da seroprevalência entre vários grupos populacionais. O nível de significância foi estabelecido em 5 %.

As distribuições dos títulos de IgG (anti-S) específica para SARS-CoV-2 foram representadas graficamente através de diagramas de extremos e quartis (*box-plot*) para os subgrupos populacionais definidos segundo o sexo, grupo etário, região e positividade para IgG (anti-NP). Adicionalmente, procedeu-se à estimação das médias geométricas e os respetivos IC 95. As estimativas apresentadas foram calibradas para a distribuição da população residente em Portugal em 2021, por região, sexo e grupo etário (Instituto Nacional de Estatística, 2022). Para o cálculo dos pesos amostrais foi adotada a metodologia anteriormente utilizada no ISN COVID-19 (Kislaya, et al, 2021, Kislaya, et al, 2022a)

A análise dos títulos dos anticorpos neutralizantes para SARS-CoV-2 foi realizada numa sub-amostra do inquérito escolhida por amostragem aleatória simples entre os positivos para IgG anti-S (IgG anti-S \geq 50 UA/ml). Foi estimado o coeficiente de correlação de *Spearman* entre as concentrações de IgG (anti-S) e anticorpos neutralizantes para SARS-CoV-2. Foi calculada a média geométrica dos títulos dos anticorpos neutralizantes, e respetivo IC 95, segundo sexo, grupo etário e reatividade para IgG (anti-NP).

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

4. Resultados

4.1. Características da amostra

Foram obtidas 3.825 amostras na quarta fase do ISN COVID-19, sendo 52,4 % do sexo feminino. A distribuição da amostra pelos grupos etários variou entre 4,0 % no grupo etário 5-9 anos e 17,1 % no grupo etário 70 ou mais anos. Do total de amostras, 35,6 % pertenciam a residentes na região de Lisboa e Vale do Tejo e 34,7 % eram de residentes na região Norte. As características da amostra estudada encontram-se resumidas no Quadro 1.

Quadro 1. Distribuição da amostra da quarta fase do ISN COVID-19 segundo características demográficas, 27 abril a 8 junho 2022

Caraterísticas	n	%	% *
Total	3.825	-	-
Sexo			
Masculino	1.868	48,8	47,6
Feminino	1.957	51,2	52,4
Grupo etário			
0-4 anos	276	7,2	4,1
5-9 anos	285	7,5	4,0
10-19 anos	555	14,5	9,9
20-29 anos	443	11,6	10,7
30-39 anos	446	11,7	11,7
40-49 anos	435	11,4	15,0
50-59 anos	450	11,8	14,4
60-69 anos	455	11,9	13,1
≥ 70 anos	480	12,6	17,1
Região			
Norte	687	18,0	34,7
Centro	477	12,5	16,0
Lisboa e Vale do Tejo	810	21,2	35,6
Alentejo	521	13,6	4,5
Algarve	388	10,1	4,5
RA Madeira	499	13,1	2,4
RA Açores	443	11,6	2,3

RA: Região Autónoma; n: número de indivíduos observados; *Percentagem ponderada para a distribuição da população residente em Portugal em 2021 por região, sexo e grupo etário.

4.2. Seroprevalência

No Quadro 2 são apresentadas as estimativas da seroprevalência estratificada segundo as características da população (sexo, grupo etário e região).

A seroprevalência estimada de anticorpos específicos contra SARS-CoV-2 [IgG (anti-NP)] na população em estudo foi de 27,3 % (IC 95: 25,5 a 29,1 %). Foram observadas diferenças estatisticamente significativas na distribuição da seroprevalência de IgG (anti-NP) por grupo etário, tendo sido mais elevada nos grupos etários 0-4 anos (39,2 %; IC 95: 32,3 a 46,5 %) e 10-19 anos (40,0 %; IC 95: 35,0 a 45,2 %). Os grupos etários 60-69 anos e 70 ou mais anos de idade apresentaram uma seroprevalência de IgG (anti-NP) inferior à observada nos restantes grupos etários [(21,0 %; IC 95: 16,7 a 26,0 %) e (17,3 %; IC 95: 13,5 a 21,7 %), respetivamente]. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas na distribuição da seroprevalência de IgG (anti-NP) segundo o sexo ($p=0,8789$) e região ($p=0,1465$).

A seroprevalência de IgG (anti-S) foi de 95,0 % (IC 95: 94,2 a 95,7 %), destacando-se a existência de diferenças estatisticamente significativas entre regiões e grupos etários. A seroprevalência de IgG (anti-S) mais elevada verificou-se na região Norte (96,4 %; IC 95: 94,9 a 97,5 %) e a mais baixa na região do Algarve (91,0 %; IC 95: 87,6 a 93,5%).

A seroprevalência total [IgG (anti-S) e/ou IgG (anti-NP)] foi de 95,8 % (IC 95: 95,0 a 96,4 %). Entre regiões variou entre 91,7 % (IC 95: 88,4 a 94,1 %) no Algarve e 96,8 % (IC 95: 95,3 a 97,8 %) na região Norte. Foram observados valores de seroprevalência semelhantes entre homens e mulheres. Observou-se uma variação significativa da seroprevalência total por grupo etário, sendo os valores mais baixos observados na população pediátrica com idade inferior a 10 anos [0-4 anos: (76,2 %; IC 95: 69,6 a 81,7 %) e 5-9 anos: (78,7 %; IC: 72,1 a 84,1 %)].

Quadro 2. Seroprevalência estratificada por sexo, grupo etário e região na quarta fase do ISN COVID-19, 27 abril a 8 junho 2022

	IgG (anti-NP) +		IgG (anti-S) +		IgG (anti-NP)+ ou IgG (anti-S)+	
	%*	IC 95	%*	IC 95	%*	IC 95
Total	27,3	[25,5;29,1]	95,0	[94,2;95,7]	95,8	[95,0;96,4]
Sexo	p= 0,8789		p=0,9801		p=0,8544	
Masculino	27,4	[25,0;30,0]	95,0	[93,9;95,9]	95,7	[94,6;96,6]
Feminino	27,1	[24,7;29,7]	95,1	[93,7;96,1]	95,8	[94,6;96,8]
Grupo etário	p<0,001		p<0,001		p<0,001	
0-4 anos	39,2	[32,3;46,5]	71,2	[64,4;77,2]	76,2	[69,6;81,7]
5-9 anos	32,9	[26,6;39,9]	78,2	[71,5;83,6]	78,7	[72,1;84,1]
10-19 anos	40,0	[35,0;45,2]	95,2	[92,5;97,0]	96,2	[93,7;97,7]
20-29 anos	29,7	[24,8;35,2]	97,9	[95,7;99,0]	98,6	[96,5;99,5]
30-39 anos	30,3	[25,2;36,0]	96,3	[93,4;98,0]	96,9	[94,1;98,4]
40-49 anos	27,2	[22,3;32,7]	96,6	[93,8;98,2]	97,7	[95,3;98,9]
50-59 anos	27,0	[22,2;32,4]	97,5	[95,0;98,8]	97,7	[95,1;98,9]
60-69 anos	21,0	[16,7;26,0]	97,0	[94,4;98,4]	97,4	[94,8;98,7]
≥ 70 anos	17,3	[13,5;21,7]	96,7	[94,2;98,2]	97,2	[94,8;98,6]
Região	p=0,1465		p=0,0141		p=0,0315	
Norte	24,8	[21,6;28,3]	96,4	[94,9;97,5]	96,8	[95,3;97,8]
Centro	28,2	[24,3;32,6]	95,2	[93,0;96,7]	95,9	[93,8;97,3]
Lisboa e Vale do Tejo	29,3	[26,3;32,6]	94,2	[92,5;95,6]	95,3	[93,7;96,5]
Alentejo	25,4	[21,7;29,5]	95,3	[93,1;96,9]	96,0	[93,9;97,3]
Algarve	27,6	[23,2;32,5]	91,0	[87,6;93,5]	91,7	[88,4;94,1]
RA Madeira	31,0	[26,8;35,5]	94,1	[92,0;95,7]	95,6	[93,7;97]
RA Açores	24,4	[20,6;28,6]	93,7	[91,1;95,6]	95,9	[93,8;97,3]

RA: Região Autónoma; *Percentagem ponderada para a distribuição da população residente em Portugal em 2021 por região, sexo e grupo etário.

4.3. Quantificação dos anticorpos IgG (anti-S)

Na Figura 2 está representada a distribuição dos títulos de IgG (anti-S) específica para SARS-CoV-2 por sexo, observando-se uma distribuição semelhante entre os homens e mulheres.

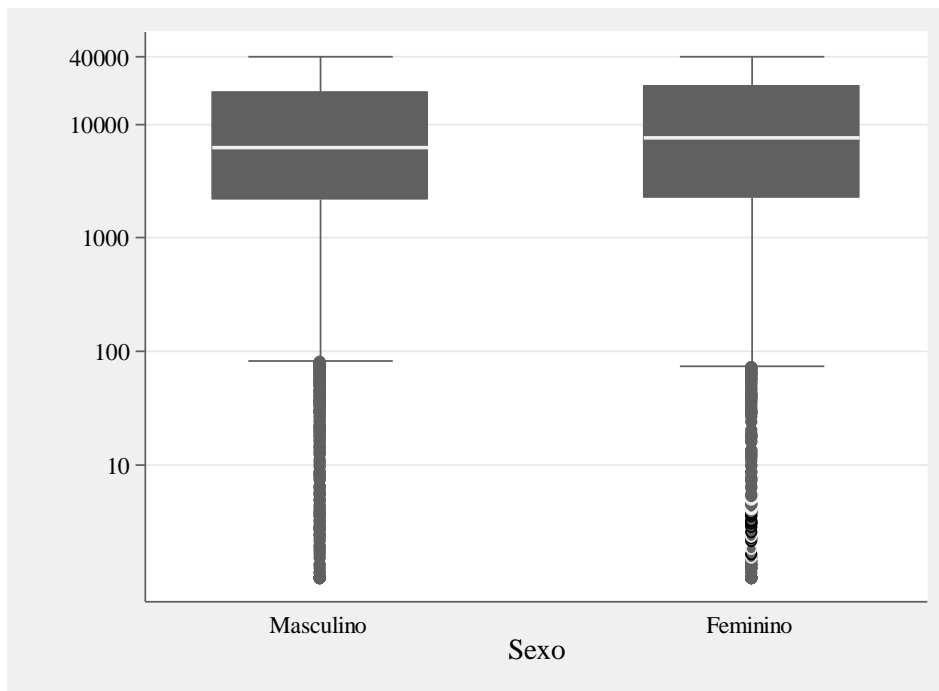


Figura 2. Distribuição dos títulos de IgG (anti-S) específica para SARS-CoV-2 (UA/ml) segundo o sexo, na quarta fase do ISN COVID-19, 27 abril a 8 junho 2022.

Na análise da distribuição dos títulos de IgG (anti-S) por grupo etário (Figura 3), destacam-se os menores valores observados nos grupos etários 0-4 e 5-9 anos, quando comparando com os restantes grupos etários.

Também se verificou um menor valor do título de IgG (anti-S) na população com 70 ou mais anos de idade, comparativamente com os adultos mais jovens.

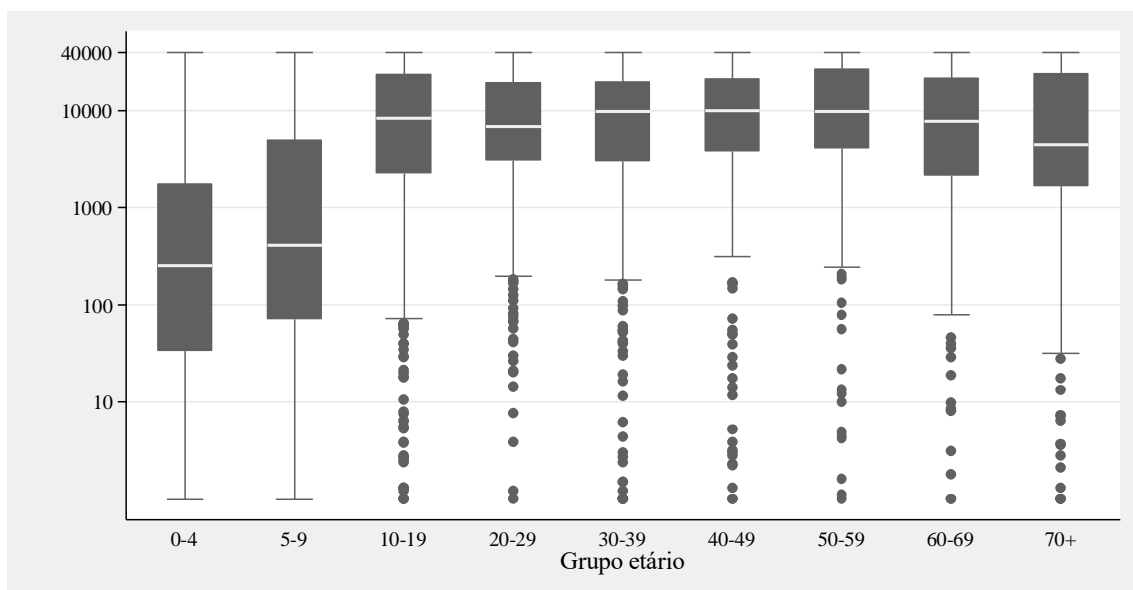


Figura 3. Distribuição dos títulos de IgG (anti-S) específica para SARS-CoV-2 (UA/ml) segundo o grupo etário, na quarta fase do ISN COVID-19, 27 abril a 8 junho 2022.

A média geométrica do valor de IgG (anti-S) específica para SARS-CoV-2 foi mais elevada no grupo com resultado positivo para IgG (anti-NP) (Figura 4).

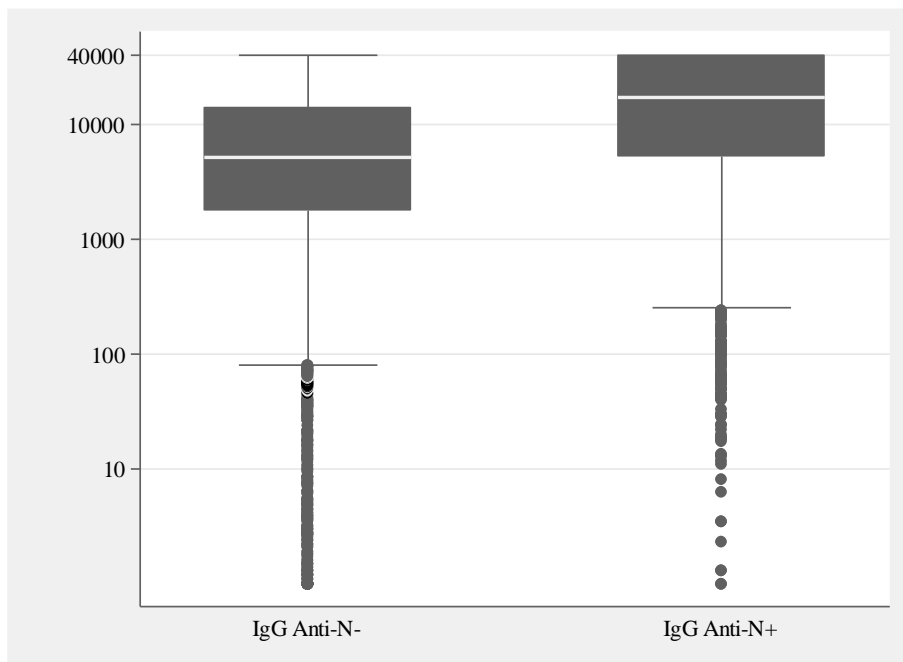


Figura 4. Distribuição do título de IgG (anti-S) específica para SARS-CoV-2 (UA/ml) segundo a positividade da IgG (anti-NP) específica para SARS-CoV-2, na quarta fase do ISN COVID-19, 27 abril a 8 junho 2022.

Não foram observadas diferenças nos valores de IgG (anti-S) entre regiões (Figura 5).

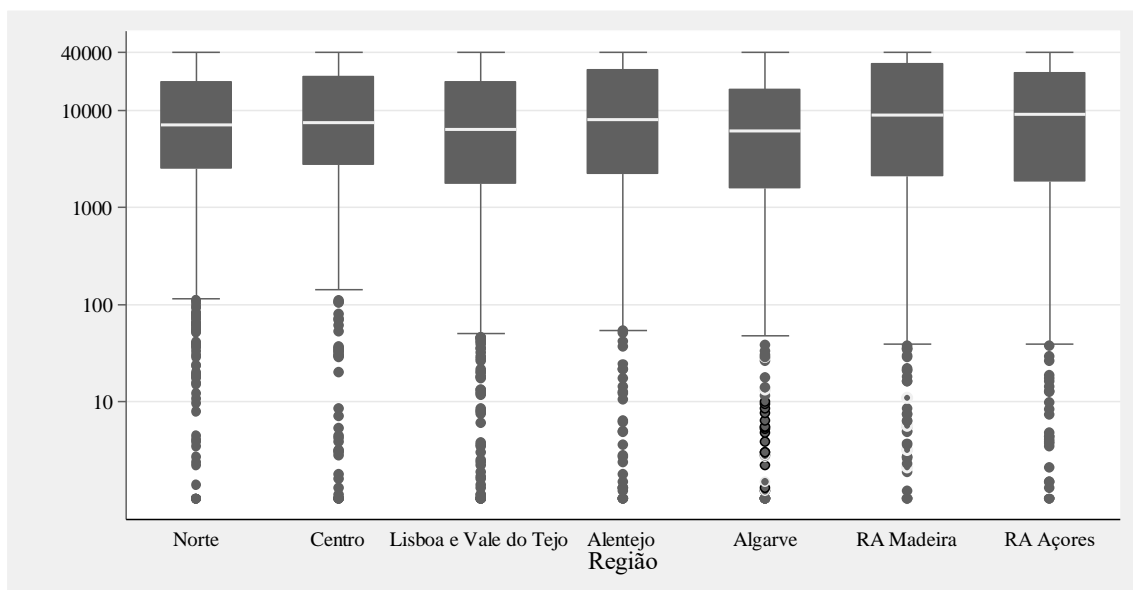


Figura 5. Distribuição dos títulos de IgG (anti-S) específica para SARS-CoV-2 (UA/ml) segundo a região, na quarta fase do ISN COVID-19, 27 abril a 8 junho 2022.

Quadro 3. Média geométrica de IgG (anti-S) específica para SARS-COV-2 (UA/ml) segundo sexo, grupo etário, região e positividade para IgG (anti-NP), na quarta fase do ISNCOVID-19, 27 abril a 8 junho 2022

Sexo	Média geométrica (UA/ml)	IC 95
Masculino	4.344,8	3.909,5 – 4.828,6
Feminino	4.662,3	4.150,5 – 5.237,1
Grupo etário		
0-4 anos	180,4	118,9 – 273,6
5-9 anos	426,6	285,4 – 637,7
10-19 anos	4.750,8	3.795,5 – 5.946,5
20-29 anos	6.011,5	5.050,5 – 7.155,4
30-39 anos	5.433,3	4.342,8 – 6.797,6
40-49 anos	6.940,7	5.645,7 - 8.532,9
50-59 anos	7.669,3	6.297,5 – 9.340,0
60-69 anos	5.484,6	4.420,3 – 6.805,2
≥ 70 anos	4.558,5	3.708,4 – 5.603,4
Região		
Norte	5.020,5	4.358,0 – 5.783,6
Centro	5.020,9	4.158,3 – 6.062,4
Lisboa e Vale do Tejo	3.998,1	3.451,9 – 4.630,9
Alentejo	5.038,9	4.177,2 – 6.078,3
Algarve	2.970,2	2.294,2 – 3.845,3
RA Madeira	5.070,6	4.188,3 – 6.138,8
RA Açores	4.339,1	3.523,1 – 5.344,1
Positividade para IgG (anti-NP)		
Positivo	9.233,6	8.099,1 – 10.527,0
Negativo	3.452,8	3.146,7 – 3.788,6

RA: Região Autónoma

4.4. Anticorpos neutralizantes

Os anticorpos neutralizantes foram determinados para uma subamostra de 351 indivíduos com IgG (anti-S) positiva [IgG (anti-S) ≥ 50 UA/ml].

A proporção de amostras IgG (anti-S) positivas, com anticorpos neutralizantes foi de 94,6 % (IC95: 92,0 a 96,9 %), observando-se uma correlação forte positiva entre o título de IgG (anti-S) específica para SARS-CoV-2 e os anticorpos neutralizantes (Spearman's $\rho = 0,90$).

Na análise da distribuição do título dos anticorpos neutralizantes para vários grupos populacionais observou-se uma menor média geométrica nos grupos etários 0-9 anos (155,5 UI/ml; IC 95: 60,0 – 403,3 UI/ml) e 70 ou mais anos (1.490,3; IC 95: 823,0 – 2.698,8 UI/ml) e nos indivíduos negativos para IgG (anti-NP) (1.765,0 UI/ml; IC 95: 1.348,9 – 2.309,5 UI/ml) (Quadro 4).

Quadro 4. Distribuição dos títulos de anticorpos neutralizantes para SARS-CoV-2 (UI/ml) segundo sexo, grupo etário, região e positividade para IgG (anti-NP), na quarta fase do ISN COVID-19, 27 abril a 8 junho 2022

	n	Média geométrica	IC 95
Total	351	2.198,9	1.744,2 – 2.772,1
Sexo			
Masculino	171	1.762,1	1.256,6 – 2.471,1
Feminino	180	2.713,7	1.975,2 – 3.728,3
Grupo etário			
0-9 anos	33	155,5	60,0 – 403,3
10-19 anos	57	3.286,7	1.903,3 – 5.675,6
20-29 anos	39	2.216,1	1.119,3 – 4.387,9
30-39 anos	50	3.359,6	1.887,4 – 5.980,2
40-49 anos	42	3.175,7	1.845,6 – 5.464,5
50-59 anos	41	6.606,7	4.443,4 – 9.823,2
60-69 anos	43	2.217,0	1.160,5 – 4.235,3
≥ 70 anos	46	1.490,3	823,0 – 2.698,8
Positividade para IgG (anti-NP)			
Positivo	120	3.357,1	2.177,8 – 5.174,9
Negativo	231	1.765,0	1.348,9 – 2.309,5

5. Discussão

Na quarta fase do ISN COVID-19 (27 de abril a 8 de junho de 2022) a seroprevalência total estimada na população residente em Portugal foi de 95,8 % (IC 95: 95,0 a 96,4 %), o que correspondeu a um aumento de cerca de 10 % em relação à terceira fase do ISN COVID-19 (setembro a novembro de 2021), compatível com o aumento da cobertura vacinal, e com a incidência muito elevada de COVID-19 observada a partir de janeiro de 2022, aquando da disseminação e predominância da variante Ómicron em Portugal. Por outro lado, estes resultados têm de ser interpretados tendo em conta que o período de realização da quarta fase do ISN COVID-19 coincidiu com um período de rápido aumento da incidência de COVID-19 (de 1.139 casos para 2.645 casos em 14 dias por 100.000 habitantes) devido à disseminação da linhagem BA.5 da variante Ómicron, cuja frequência na população portuguesa aumentou de 15,7 % até 90,7 % durante o trabalho de campo da quarta fase do ISN COVID-19 (Direção Geral da Saúde e Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, 2022a; Direção Geral da Saúde e Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, 2022b).

Estes resultados são semelhantes aos estimados na Escócia, em semelhante período de estudo (95,7 % em maio-junho de 2022) (Public Health Scotland, 2022), e na região de Navarra, entre maio e julho de 2022 [IgG (anti-S): 92,7 %] (Castilla, et al, 2022).

O maior aumento da seroprevalência total foi observado nos grupos etários abaixo dos 10 anos, salientando-se que no grupo etário 0-4 anos, não elegível para vacinação, esta aumentou cerca de 4 vezes em relação à anterior fase do ISN COVID-19 (Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, 2021), sendo também superior às estimativas reportadas por outros países europeus no início da disseminação da variante Ómicron BA.1:

- 28,8 % no grupo etário 1-4 anos, reportada pela Irlanda em janeiro de 2022 (HSE Health Protection Surveillance Centre, 2022)
- 45 % na população pré-escolar, reportada em Itália em fevereiro de 2022 (Mari A, Garancini N, Barcellini, et al, 2022).

Estes resultados estão em linha com a elevada transmissibilidade da infeção por SARS-CoV-2 na população portuguesa mais jovem durante a onda Ómicron, ocorrida em janeiro de 2022 (Direção Geral da Saúde e Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, 2022b).

Manteve-se o padrão regional observado na segunda e terceira fases do ISN COVID-19 (Kislaya, et al, 2022a e Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, 2021), com menor seroprevalência na região do Algarve (91,7 %; IC 95: 88,4 a 94,1 %), provavelmente relacionada com a menor cobertura vacinal alcançada nesta região, uma vez que a prevalência estimada de IgG (anti-NP) (indicador serológico de infeção prévia) no Algarve não foi menor do que a estimada para as outras regiões.

Os anticorpos do tipo IgG (anti-NP) são considerados um indicador serológico de infeção prévia, no entanto, dada a sua semividua (Lumley, Wei, et al, 2021; Van Elslande, Gruwier, Godderis, & Vermeersch, 2021), esses anticorpos não são detetáveis por longos períodos de tempo após a infeção. Deste modo, a nível populacional podemos considerar que a prevalência de IgG (anti-NP) corresponde à fração de infeções por SARS-CoV-2 mais recentes. Tendo este pressuposto em mente, o aumento de cerca de 3 vezes da seroprevalência de IgG (anti-NP) observado

em relação à terceira fase do ISN COVID-19 (Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, 2021) está de acordo com a incidência muito elevada de COVID-19 observada em Portugal após a disseminação da variante Ómicron em janeiro de 2022 (Direção Geral da Saúde e Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, 2022b). Salienta-se que os grupos etários 0-4 anos e 10-19 anos foram aqueles em que se estimou uma prevalência mais elevada de IgG (anti-NP) [39,2 %; (IC 95: 32,3 a 46,5 %) e 40,0 %; IC 95 (35,0 a 45,2 %), respetivamente], confirmando o facto de os grupos etários abaixo dos 20 anos terem sido aqueles nos quais se observou uma incidência de COVID-19 mais elevada durante a onda epidémica de janeiro de 2022 (Direção Geral da Saúde e Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, 2022b). No outro extremo etário, o grupo com 70 ou mais anos de idade, foi aquele para o qual se estimou uma menor prevalência de IgG (anti-NP) (17,3 %, IC 95: 13,5 a 21,7 %), tendo sido também este o grupo etário no qual se observou uma menor incidência de COVID-19 em janeiro de 2022 (Direção Geral da Saúde e Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, 2022b).

Os anticorpos IgG (anti-S) são produzidos tanto após infeção, como após a vacinação, não permitindo de modo isolado, diferenciar as pessoas seropositivas para SARS-CoV-2 após vacinação ou infeção. A sua concentração máxima observou-se entre os 30 e os 59 anos (7.669,3 UA/ml), IC 95: 6.297,5 – 9.340,0 UA/ml) e no grupo com sinais serológicos de infeção prévia por SARS-CoV-2 (9.233,6 UA/ml, IC 95: 8.099,1 – 10.527,0 UA/ml) . Os grupos etários abaixo dos 10 anos de idade foram aqueles em que se observaram concentrações entre 11 a 26 vezes inferiores à estimada no grupo de adultos jovens. Recorde-se que, os menores de 5 anos não são elegíveis para vacinação contra a COVID-19 e que, entre os 5 e os 9 anos, muitas crianças fizeram apenas a primeira dose da primovacinação. Estudos anteriores indicam que a concentração de anticorpos é máxima nos indivíduos vacinados e simultaneamente infetados, sendo menor nas pessoas infetadas e não vacinadas (Anichini, et al, 2021; Manisty et al, 2021; Saadat et al, 2021; Wise, 2021), o que justifica os resultados encontrados.

Tal como na terceira fase do ISN COVID-19 (Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, 2021), e de acordo com evidência existente (Eliakim-Raz, et al, 2021; Munro, et al, 2021), foi encontrada uma forte correlação ($\rho=0,90$) entre os anticorpos IgG (anti-S) e os anticorpos neutralizantes.

Focando-nos nos resultados obtidos no grupo etário acima dos 70 anos, é de salientar a menor concentração de IgG (anti-S) (4.558,5 UA/ml, IC 95: 3.708,4 – 5.603,4 UA/ml) e de anticorpos neutralizantes (1.490,3 UI/ml, IC 95: 823,0 – 2.698,8 UI/ml), o que de acordo com o conhecimento atual, resultará de uma conjugação de fatores, nomeadamente: i) decaimento de anticorpos pós vacinação, por terem sido aqueles que foram vacinados há mais tempo; ii) menor resposta imunológica pós-vacinação e pós-infeção quando comparados com grupos etários mais jovens; iii) terem sido o grupo com menor incidência de COVID-19 na onda de janeiro de 2022. Ainda que este grupo etário tenha sido mais afetado na onda de maio-junho de 2022 do que em ondas anteriores, e que a vacinação com a segunda dose de reforço da vacina contra a COVID-19 para as pessoas com mais de 80 anos se tenha iniciado a meio do trabalho de campo da quarta fase do ISN COVID-19, consideramos que os atuais resultados não terão sido muito influenciados por estes fatores, pois apenas 40 % da população elegível estava vacinada aquando do final do trabalho de campo (três semanas após o início da vacinação) e o pico de infeções por SARS-CoV-2 ocorreu próximo do final do trabalho de campo.

Como limitações deste estudo referimos o facto de não ser possível a colheita de dados sobre vacinação e infeção prévia, no entanto, num contexto de elevada cobertura vacinal e elevadas taxas de ataque de COVID-19, a monitorização da seroprevalência de anticorpos específicos para SARS-CoV-2 – em especial, os anticorpos do tipo IgG (anti-S), pela sua elevada correlação com os anticorpos neutralizantes – permite monitorizar a evolução da prevalência na população geral. A simplicidade da atual metodologia permitirá a rápida implementação de novos estudos serológico num contexto epidemiológico em que tal seja necessário, por exemplo por surgimento de nova variante de preocupação. Outra limitação tem a ver com o facto deste estudo incluir apenas pessoas que recorreram aos serviços de saúde, no entanto, dado que se mantém o desenho de estudo desde o início do ISN COVID-19, os resultados serão comparáveis entre fases, assumindo efeitos semelhantes decorrentes deste viés. Como conclusão, destacamos a elevada seroprevalência na população portuguesa entre abril e junho de 2022, tendo sido mais elevada do que a observada no final de 2021. Os grupos com menor seroprevalência e menor valor de anticorpos neutralizantes são os grupos abaixo dos 10 anos e acima dos 70 anos, estando estes resultados de acordo com a situação epidemiológica nacional observada no primeiro semestre de 2022. Por outro lado, suportam as recomendações nacionais para que todas as pessoas completem os esquemas vacinais de acordo com as orientações nacionais, mesmo quando previamente infetadas, e que os grupos mais idosos e vulneráveis sejam elegíveis para nova dose de reforço (Comissão Técnica de Vacinação contra a COVID-19, 2022).

6. Referências Bibliográficas

- Abu-Raddad, L. J., Chemaitelly, H., & Butt, A. A. (2021). Effectiveness of the BNT162b2 Covid-19 Vaccine against the B.1.1.7 and B.1.351 Variants. *Jama*, 2728–2731.
- Anichini, G., Terrosi, C., Gandolfo, C., Gori Savellini, G., Fabrizi, S., Miceli, G. B., & Cusi, M. G. (2021). SARS-CoV-2 Antibody Response in Persons with Past Natural Infection. *New England Journal of Medicine*, 385(1), 90–92. Disponível em: https://doi.org/10.1056/NEJMC2103825/SUPPL_FILE/NEJMC2103825_DISCLOSURES.PDF
- Araf, Y., Akter, F., Tang, Y. dong, Fatemi, R., Parvez, M. S. A., Zheng, C., & Hossain, M. G. (2022). Omicron variant of SARS-CoV-2: Genomics, transmissibility, and responses to current COVID-19 vaccines. *Journal of Medical Virology*, 94(5), 1825–1832. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/JMV.27588>
- Azami, M., Moradi, Y., Moradkhani, A., & Aghaei, A. (2022). SARS-CoV-2 seroprevalence around the world: an updated systematic review and meta-analysis. *European Journal of Medical Research*, 27(1). Disponível em: <https://doi.org/10.1186/S40001-022-00710-2>
- Bergeri, I., Whelan, M., Ware, H., Subissi, L., Nardone, A., Lewis, H. C., ... Group, the U. S. C. (2022). Global epidemiology of SARS-CoV-2 infection: a systematic review and meta-analysis of standardized population-based seroprevalence studies, Jan 2020-Dec 2021. *MedRxiv*, 2021.12.14.21267791. Disponível em: <https://doi.org/10.1101/2021.12.14.21267791>
- Castilla, J., Lecea, O., Martín, S. C., Quílez, D., Miqueleiz, A., Trobajo-Sanmartín, C.,... Ezpeleta, C. (2022). Seroprevalence of antibodies against SARS-CoV-2 and risk of COVID-19 in Navarre, Spain, May to July 2022. *Euro Surveill.*, 27(33):pii=2200619. Disponível em: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2022.27.33.2200619>
- Chen, C., Nadeau, S., Yared, M., Voinov, P., Xie, N., Roemer, C., & Stadler, T. (2022). CoV-Spectrum: analysis of globally shared SARS-CoV-2 data to identify and characterize new variants. *Bioinformatics*, 38(6), 1735–1737. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btab856>
- Comissão Técnica de Vacinação contra a COVID-19. (2022). Parecer: estratégia de reforço vacinal, antecipação da segunda dose de reforço para população com 80 ou mais anos e residentes em ERPI. Consultado a 29 de agosto de 2022, disponível em: https://covid19.min-saude.pt/wp-content/uploads/2022/06/Parecer-CTVC-Estrategia-reforco-vacinal-antecipacao-2a-dose-ERPI-11.05.2022_pdf-1281kb.pdf.
- Direção Geral da Saúde. (2022a). Número de novos casos e óbitos por dia. Consultado a 23 de agosto de 2022, disponível em: <https://covid19.min-saude.pt/numero-de-novos-casos-e-obitos-por-dia/>
- Direção Geral da Saúde, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge. (2021a). Relatório de Monitorização da Situação Epidemiológica da COVID-19 nº14. Lisboa.

- Direção Geral da Saúde, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge. (2021b). Relatório de Monitorização da Situação Epidemiológica da COVID-19 nº7. Lisboa.
- Eliakim-Raz, N., Leibovici-Weisman, Y., Stemmer, A., Ness, A., Awwad, M., Ghantous, N., & Stemmer, S. M. (2021). Antibody Titers Before and After a Third Dose of the SARS-CoV-2 BNT162b2 Vaccine in Adults Aged ≥60 Years. *Jama*, 326(21), 2203–2204. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/JAMA.2021.19885>
- Earle, K. A., Ambrosino, D. M., Fiore-Gartland, A., Goldblatt, D., Gilbert, P. B., Siber, G. R., ... Plotkin, S. A. (2021). Evidence for antibody as a protective correlate for COVID-19 vaccines. *Vaccine*, 39(32), 4423–4428. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.VACCINE.2021.05.063>
- Hopkins, J. (2020). COVID-19 Map - Johns Hopkins Coronavirus Resource Center. Johns Hopkins Coronavirus Resource Center, consultado a 5 de agosto de 2022, disponível em: <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>
- HSE Health Protection Surveillance Centre (2022). National Serosurveillance Programme: Report on Seroprevalence of SARS-CoV-2 antibodies in adults in Ireland, May 2022. Consultado a 5 de agosto de 2022., disponível em: [NSP combined adult paed cycle 1 report_final.pdf \(hpsc.ie\)](https://www.hpsc.ie/nsp/combined_adult_paeds_cycle_1_report_final.pdf)
- Instituto Nacional de Estatística. (2022). Plataforma de divulgação dos Censos 2021 – Resultados Provisórios. Consultado o em 23 de agosto de 2022, disponível em: https://censos.ine.pt/scripts/db_censos_2021.html
- Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge. (2021). Inquérito Serológico Nacional COVID-19 (3ª fase). Relatório de apresentação de resultados. Lisboa. Consultado a 5 de agosto de 2022, disponível em: <http://hdl.handle.net/10400.18/7828>
- Khoury, D. S., Cromer, D., Reynaldi, A., Schlub, T. E., Wheatley, A. K., Juno, J. A., ... Davenport, M. P. (2021). Neutralizing antibody levels are highly predictive of immune protection from symptomatic SARS-CoV-2 infection. *Nature Medicine*, 27(7), 1205–1211. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/S41591-021-01377-8>
- Kislaya, I., Gonçalves, P., Barreto, M., Sousa, R. de, Garcia, A. C., Matos, R., ... Alves, J. (2021). Seroprevalence of SARS-CoV-2 infection in Portugal in May-July 2020: Results of the first national serological survey (ISNCOVID-19). *Acta Medica Portuguesa*, 34(2), 87–94. Disponível em: <https://doi.org/10.20344/amp.15122>
- Kislaya, I., Gonçalves, P., Gómez, V., Gaio, V., Roquette, R., Barreto, M., ... Rodrigues, A. P. (2022a). SARS-CoV-2 seroprevalence in Portugal following the third epidemic wave: results of the second National Serological Survey (ISN2COVID-19). *Infectious Diseases*, 54 (6)(6), 418–424. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/23744235.2021.2025421>
- Kislaya, I., Rodrigues, E.F., Borges, V., Gomes, J.P., Sousa, C., Almeida, J.P., ... PT-COVID-19 Group (2022b). Comparative effectiveness of coronavirus vaccine in preventing breakthrough infections among vaccinated persons infected with delta and alpha variants. *Emerg Infect Dis*, 28(2). Disponível em:

<https://doi.org/10.3201/eid2802.211789>

- Kislaya, I., Casaca, P., Borges, V., Sousa, C., Ferreira, B.I., Fonte, A., ... Peralta-Santos, André. (2022c) Comparative COVID-19 Vaccines Effectiveness in Preventing Infections, Hospitalizations, and Deaths with SARS-CoV-2 BA.5 and Ba.2 Omicron Lineages: A Case-Case and Cohort Study Using Electronic Health Records in Portugal. Available at SSRN: <https://ssrn.com/abstract=4180482> or <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.4180482>
- Lumley, S. F., Wei, J., O'Donnell, D., Stoesser, N. E., Matthews, P. C., Howarth, A., ... Eyre, D. W. (2021). The duration, dynamics and determinants of SARS-CoV-2 antibody responses in individual healthcare workers. *Clinical Infectious Diseases : An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 73(3), e699–e709. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/CID/CIAB004>
- Manisty, C., Otter, A. D., Treibel, T. A., McKnight, Á., Altmann, D. M., Brooks, T., ... Moon, J. C. (2021). Antibody response to first BNT162b2 dose in previously SARS-CoV-2-infected individuals. *The Lancet*, 397(10279), 1057–1058. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00501-8/ATTACHMENT/A04BCE3C-B4FE-497C-B449-EF842DC30461/MMC1.PDF](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00501-8/ATTACHMENT/A04BCE3C-B4FE-497C-B449-EF842DC30461/MMC1.PDF)
- Mari, A., Garancini, N., Barcellini, L., Zuccotti, G.V., Alberti, L., Gaia, P., Amendola, A.(2022). SARS-CoV-2 Seroprevalence Among School-Age Children in Milan: How Has It Changed With the Fourth Pandemic Wave? *Pediatr Infect Dis J*, 41(8):e344–5. Consultado a 5 de agosto de 2022, disponível em: <https://europepmc.org/article/med/35622423>
- Merad, M., Blish, C. A., Sallusto, F., & Iwasaki, A. (2022). The immunology and immunopathology of COVID-19. *Science*, 375(6585), 1122–1127. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.ABM8108/ASSET/379E9998-E334-4EE4-B699-C7A1DC88EF73/ASSETS/IMAGES/LARGE/SCIENCE.ABM8108-F2.JPG>
- Munro, A. P. S., Janani, L., Cornelius, V., Aley, P. K., Babbage, G., Baxter, D., ... Appleby, K. (2021). Safety and immunogenicity of seven COVID-19 vaccines as a third dose (booster) following two doses of ChAdOx1 nCov-19 or BNT162b2 in the UK (COV-BOOST): a blinded, multicentre, randomised, controlled, phase 2 trial. *The Lancet*, 0(0). Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02717-3/ATTACHMENT/28BC3E8F-186F-4164-93F9-79B8195CBBCE/MMC2.PDF](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02717-3/ATTACHMENT/28BC3E8F-186F-4164-93F9-79B8195CBBCE/MMC2.PDF)
- Public Health Scotland. (2022). Enhanced Surveillance of COVID-19 in Scotland - Population-based seroprevalence surveillance 11 August 2021. Consultado a 5 agosto de 2022, disponível em: <https://publichealthscotland.scot/id/83780>
- Rao, J. N. K., & Scott, A. J. (1987). On Simple Adjustments to Chi-Square Tests with Sample Survey Data. *The Annals of Statistics*, 15(1), 385–397. Disponível em: <https://doi.org/10.1214/aos/1176350273>
- Saadat, S., Rikhtegaran Tehrani, Z., Logue, J., Newman, M., Frieman, M. B., Harris, A. D., & Sajadi, M. M. (2021). Binding and Neutralization Antibody Titers After a Single Vaccine Dose in Health Care Workers Previously

Infected With SARS-CoV-2. *Jama*, 325(14), 1467–1469. Disponível em:
<https://doi.org/10.1001/JAMA.2021.3341>

StataCorp. (2017). *Stata Statistical Software: Release 15*. College Station, TX: StataCorp LP.

Van Elslande, J., Gruwier, L., Godderis, L., & Vermeersch, P. (2021). Estimated Half-Life of SARS-CoV-2 Anti-Spike Antibodies More Than Double the Half-Life of Anti-nucleocapsid Antibodies in Healthcare Workers. *Clinical Infectious Diseases*, 73(12), 2366–2368. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/CID/CIAB219>

Wise, J. (2021). Covid-19: People who have had infection might only need one dose of mRNA vaccine. *BMJ*, 372, n308. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/BMJ.N308>

