



**Estudo de seroprevalência
de anticorpos anti-SARS-CoV-2 no concelho de Mora**

Mélanie Ferreira Costa

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob a orientação

da Professora Doutora Mónica Sofia Leal Condinho e do

Professor Doutor Carlos José Manaia Sinogas

2021

Estudo de seroprevalência de anticorpos anti-SARS-CoV-2 no concelho de Mora

Declaração de autoria de trabalho:

Declaro ser a autora deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.

(Mélanie Ferreira Costa)

© Copyright: Mélanie Ferreira Costa

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Agradecimentos

Antes de mais, quero dirigir os meus mais sinceros agradecimentos à Professora Doutora Mónica Condinho por ter aceite orientar-me neste trabalho, pelo projeto que me propôs e também pela dedicação e disponibilidade no acompanhamento. Foi para mim um orgulho poder contar com a sua ajuda. Sem dúvida que é um exemplo a seguir enquanto profissional na área farmacêutica.

De seguida, quero agradecer ao Professor Doutor Carlos Sinogas por me ter proposto este estudo e me ter orientado neste trabalho. Obrigada pela preciosa ajuda e por todo o conhecimento que me transmitiu na área da imunologia.

Também dirigir os meus agradecimentos à Professora Doutora Isabel Ramalhinho por me ter ensinado e orientado no meu percurso pelo SPSS. Foi sem dúvida fundamental para a realização deste estudo.

Aos utentes da Farmácia Central de Mora por terem participado neste estudo. Obrigada pelo tempo que despenderam na realização do teste. Foram uma peça essencial para a concretização deste estudo.

Um agradecimento especial para toda a minha família que de alguma forma colaborou neste processo e para que hoje pudesse chegar aqui, sem a vossa ajuda não teria conseguido!

Agradecer a todos os meus amigos mais chegados, que mesmo longe estiveram presentes ao longo do meu percurso académico.

Obrigada aos meus padrinhos de curso por me terem aceite enquanto afilhada e me terem acompanhado no meu percurso académico.

Aos meus afilhados de curso pelo voto de confiança para vos orientar neste percurso académico. A madrinha estará sempre aqui para vos apoiar no que precisarem.

Por último, agradecer pelas oportunidades de estágio e aos orientadores que me orientaram e tanto me ensinaram na área.

Resumo

Em dezembro de 2019, na China, registaram-se os primeiros casos de infeção pelo novo coronavírus, que se veio a espalhar por todo o mundo pondo em causa a saúde e a vida da humanidade. A pandemia foi declarada pela OMS a 11 de março de 2020.

As estatísticas do número de casos confirmados e óbitos são ferramentas essenciais para monitorizar a propagação da doença, no entanto, sabe-se que não refletem o real impacto da mesma. Acontece que, um grande número de casos não é detetado por serem casos assintomáticos, paucissintomáticos ou simplesmente não serem testados.

Neste contexto, os estudos de seroprevalência revelam elevada importância para estimar o número de pessoas que foram expostas ao vírus e para avaliar a proporção da população que já poderá ter desenvolvido anticorpos contra o SARS-CoV-2 numa área específica, podendo estar potencialmente protegidas contra infeções subsequentes.

Os primeiros dois casos confirmados de infeção pelo SARS-CoV-2 em Portugal ocorreram a dia 1 de março de 2020, no Porto e em Lisboa. Relativamente à vila de Mora situada no distrito de Évora, sabe-se que os primeiros casos identificados de COVID-19 foram registados no dia 2 de agosto de 2020. Em sequência desenvolveu-se um surto no concelho, que segundo se sabe, terá incluído 62 pessoas.

Realizou-se um estudo de seroprevalência nesta população, a fim de perceber, se os indivíduos que testaram positivo desenvolveram anticorpos, dos que não testaram positivo quantos contactaram o vírus e, até que ponto a passagem do vírus levou à imunização da população. Para este estudo, usaram-se testes rápidos de deteção de anticorpos anti-SARS-CoV-2 qualitativos.

Participaram 272 pessoas, tendo-se registado uma idade média de $46,6 \pm 18,7$ anos, sendo que o género mais prevalente foi o feminino. A maioria dos participantes era de nacionalidade portuguesa e declarou-se no ativo relativamente à situação profissional.

Concluiu-se que a maioria dos participantes que tinha testado positivo no teste RT-PCR, adquiriu imunidade que foi confirmada através da realização do teste rápido serológico e da deteção de imunoglobulinas. Além disso, também foi possível detetar participantes que provavelmente estiveram em contacto com o vírus, sem que tenham

tido conhecimento. Estima-se que cerca de um terço das pessoas que contactaram o vírus terão sido testadas positivas para a infeção.

Palavras-chave: Coronavírus, SARS-CoV-2, infeção, COVID-19, seroprevalência, imunoglobulinas

Abstract

In December 2019, in China, the first cases of infection by the new coronavirus where registered, which came to spread throughout the world, questioning the health and life of humanity. The pandemic was declared by WHO on March 11, 2020.

Statistics on the number of confirmed cases and deaths are essential tools to monitor the spread of the disease, however, it is known that they do not reflect its real impact. It turns out that a large number of cases are not detected because they are asymptomatic, paucissymptomatic or simply not tested.

In this context, seroprevalence studies show high importance to estimate the number of people who have been exposed to the virus and to assess the proportion of the population that may have already developed antibodies against SARS-CoV-2 in a specific area. potentially protected against subsequent infections.

The first two confirmed cases of SARS-CoV-2 infection in Portugal occurred on March 1, 2020, in Porto and Lisbon. Regarding the village of Mora located in the district of Évora, it is known that the first diagnosed cases of COVID-19 were registered on August 2, 2020. As a result, an outbreak developed in the municipality, which, according to what is known, will have included 62 people.

A seroprevalence study was carried out in this population, in order to understand if the individuals who tested positive developed antibodies, from those who did not test positive how many were infected, and how far the passage of the virus led to population immunization. For this study, rapid tests to detect qualitative anti-SARS-CoV-2 antibodies were used.

A total of 272 participants were obtained, with a mean age of 46.6 ± 18.7 years, with the most prevalent gender being the feminine. Most of the participants were Portuguese and declared themselves active according to their professional situation.

In conclusion, the majority of participants who had tested positive in the RT-PCR test, acquired immunity that was confirmed by performing the rapid serological test and detection of immunoglobulins. Furthermore, it was also possible to detect participants who were probably in contact with the virus, without being aware of it. It is es-

estimated that about a third of people who have contacted the virus will have tested positive for the infection.

Keywords: Coronavirus, SARS-CoV-2, infection, COVID-19, seroprevalence, immunoglobulins

Índice Remissivo

Agradecimentos	v
Resumo.....	vii
Abstract	ix
Índice de Figuras	xiii
Índice de Gráficos	xv
Índice de Tabelas.....	xvii
Lista de Abreviaturas.....	xiv
1. Introdução	1
1.1. Aspetos do vírus.....	1
1.1.1. Origem e evolução do SARS-CoV-2.....	1
1.2. Taxonomia.....	3
1.2.1. Estrutura.....	3
1.3. Replicação	7
1.4. Transmissão.....	9
1.5. Patologia.....	11
1.5.1. Dano direto induzido pelo SARS-CoV-2.....	11
1.5.2. Sintomas	11
1.5.3. Diagnóstico	12
1.5.3.1. Testes moleculares de amplificação genética (TAAM)	12
1.5.3.2. Testes rápidos de antigénio (TRAg)	12
1.5.4. Prevenção e Tratamento.....	13
1.6. Dados epidemiológicos a nível nacional e internacional.....	17
1.7. Testes Serológicos.....	21
1.7.1. Elisa	22
1.7.2. Testes rápidos.....	24
1.8. O papel do farmacêutico nos estudos de seroprevalência.....	29
1.9. Justificação do estudo.....	31

2. Objetivo	35
2.1. Objetivo geral	35
2.2. Objetivos específicos.....	35
3. Metodologia	37
3.1. Localização espacial e temporal	37
3.2. Seleção da amostra.....	37
3.3. Descrição da farmácia	37
3.4. Instrumento para recolha de dados.....	38
3.5. Materiais	38
3.6. Procedimento	39
3.7. Congruência do resultado dos testes	40
3.8. Tratamento de dados	40
4. Resultados.....	41
4.1. Dados sociodemográficos.....	41
4.2. Residência / Viagem nos últimos 30 / 60 dias	44
4.3. Sintomatologia nos últimos 30 / 60 dias.....	45
4.4. Contactos nos últimos 30 / 60 dias.....	46
4.5. História anterior de testes COVID-19.....	48
4.6. Teste rápido IgG/IgM.....	50
5. Discussão.....	53
6. Conclusão.....	61
7. Bibliografia	63
8. Anexos.....	71
<i>Anexo 1 – Instrumento para recolha de dados utilizado no estudo.....</i>	<i>71</i>
<i>Anexo 2 – Consentimento informado específico para o estudo</i>	<i>73</i>
<i>Anexo 3 – Cartão entregue com o resultado do teste</i>	<i>75</i>
<i>Anexo 4 – Folheto informativo de um dos testes utilizados no estudo.....</i>	<i>77</i>
<i>Anexo 5 – Procedimento detalhado da realização do teste</i>	<i>81</i>

Índice de Figuras

Figura 1.2.1. Distinção entre a composição em aminoácidos e a estrutura proteica do SARS-CoV e do SARS-CoV-2	4
Figura 1.6. Número de casos COVID-19 por 100 mil habitantes, no mundo durante a semana 35/36 (06/09/2021 – 19/09/2021)	18
Figura 1.6.1. Evolução de casos e mortes, respetivamente, por faixa etária, entre 30/12/2019 e 03/05/2021	18
Figura 1.7.1. Ilustração pelo método de ELISA	24
Figura 1.7.2. Componentes do biossensor dos testes rápidos COVID-19	25
Figura 1.7.3. Ilustração do mecanismo de funcionamento dos testes imunocromatográficos	26

Índice de Gráficos

Gráfico 1.6. Aparecimento e evolução do número de novos casos em Portugal no mês de março de 2020	19
Gráfico 1.6.1. Evolução do número de casos em Portugal entre março de 2020 e setembro de 2020	20
Gráfico 1.9. Número de casos ativos de COVID-19 no concelho de Mora por datas	32
Gráfico 4.1. Género da amostra do estudo	41
Gráfico 4.1.1. Grupos etários da amostra	41
Gráfico 4.1.2. Situação profissional dos participantes da amostra	43
Gráfico 4.1.3. Resposta à questão “Habita sozinho(a)?”	43
Gráfico 4.2. Resposta à pergunta “Residência / Viagens nos últimos 30 /60 dias”	44
Gráfico 4.3. Sintomatologia nos últimos 30 /60 dias	45
Gráfico 4.4. Participantes que contactaram com suspeitas de infetados por COVID-19	47
Gráfico 4.4.1. Contacto com COVID positivo (teste positivo) e com ou sem sintomas	47
Gráfico 4.5. Quantidade (em número) e percentagem (%) de participantes que efetuaram teste RT-PCR RNA (zaragatoa)	48
Gráfico 4.5.1. Resultado dos testes de RT-PCR RNA	49
Gráfico 4.5.2. Número e percentagem de participantes que já tinha realizado teste imunológico antes deste estudo	49
Gráfico 4.5.3. Resultado dos testes imunológicos	50
Gráfico 4.6. Resultados dos testes (rápidos) serológicos	50

Índice de Tabelas

Tabela 1.6. Número total de casos e mortes por COVID-19 por área geográfica	17
Tabela 1.9. Número de casos ativos de COVID-19 no concelho de Mora por datas	32
Tabela 4.1. Profissões dos participantes da amostra	42
Tabela 4.3. Especificação dos sintomas apresentados nos últimos 30 / 60 dias	46
Tabela 4.6. Dados dos 15 participantes que positivaram para anticorpos contra o SARS-CoV-2	51

Lista de Abreviaturas

ACE 2 - Enzima Conversora da Angiotensina 2

AIM – Autorização de Introdução no Mercado

CDS – Sequências de codificação

CoV – Coronavírus

DGS – Direção-Geral da Saúde

EMA – *European Medicines Agency*

EPI - Equipamento de Proteção Individual

ERS – Entidade Reguladora da Saúde

Ig - Imunoglobulina

INFARMED – Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P.

INSA - Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge

Proteína N – Proteína da Nucleocápside

ORF – Fase de leitura aberta

P – Poliproteína

RT-PCR – *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction*

Proteína S – Proteína *Spike*

SABA - Solução Antissética de Base Alcoólica

SNP – Polipeptídeos de nucleótido único

TAAN - Testes Moleculares de Amplificação de Ácidos Nucleicos

TAF – Técnico Auxiliar de Farmácia

1. Introdução

1.1. Aspetos do vírus

1.1.1. Origem e evolução do SARS-CoV-2

Desde 1960, seis diferentes coronavírus (CoV's) foram identificados e nas duas últimas décadas, dois CoVs epidémicos surgiram em humanos. A síndrome respiratória aguda grave (SARS)-CoV em 2002-2003 e a síndrome respiratória do Médio Oriente (MERS)-CoV em 2012-2015 pertencem ao género Betacoronavírus (1,2).

A 31 de dezembro de 2019, a cidade de Wuhan, na província de Hubei, relatou vários casos de pneumonia derivados de um mercado local de frutos do mar. A principal manifestação clínica desses casos era a febre. Alguns doentes apresentavam também mal-estar, tosse seca e dispneia, sendo que radiografias de tórax mostravam lesões infiltrativas no pulmão, indiciadoras de pneumonia viral. As autoridades chinesas identificaram um novo tipo de vírus (um novo coronavírus, 2019-nCoV), isolado em janeiro de 2020. Ainda em janeiro, a Organização Mundial de Saúde (OMS) declarou o surto como uma nova emergência de saúde pública e designou o vírus como novo coronavírus (2019-nCoV). Em fevereiro a doença causada pelo novo vírus foi designada pela OMS como COVID-19 (“**coronavírus disease 2019**”) e a entidade infecciosa designada como vírus SARS-CoV-2, por analogia com o coronavírus antes isolado em 2002 (1).

Existe a perceção que todos os coronavírus humanos serão de origem zoonótica, nomeadamente resultantes de adaptações dos vírus de morcegos ao homem (3,4).

As análises bioinformáticas permitiram identificar que o SARS-CoV-2 tem características típicas da família dos coronavírus. Os coronavírus mais patogénicos pertencem à linhagem 2B dos betacoronavírus (3,5). No começo da epidemia em Wuhan, os cientistas obtiveram a sequência completa do genoma do vírus de cinco doentes infetados com SARS-CoV-2. Estas sequências genómicas partilharam 79,5% de afinidade com o SARS-CoV e, aproximadamente, 50% com o MERS-CoV. Admite-se que o SARS-CoV-2 possa ser derivado do SARS-CoV identificado em 2002. É, contudo, considerado um novo betacoronavírus que infeta seres humanos (3,6).

Um estudo analisou os genomas de SARS-CoV-2 e similares isolados. Os resultados indicaram que um isolado identificado como EPI_ISL_403928 mostra diferentes distâncias genéticas de todo o seu genoma nas árvores filogenéticas construídas. As sequências de codificação das proteínas da espícula (“*spike*” - S), da nucleoproteína (N) e da poliproteína (P) quando comparadas com as sequências de outro SARS-CoV-2, exibem 4, 2 e 22 variações em S, N e P, respetivamente, ao nível de resíduos de aminoácidos (7). Os resultados mostraram assim que, pelo menos, duas estirpes de SARS-CoV-2 estiveram envolvidas no surto inicial. Depois de alinhar as sequências nucleotídicas, com base nos alinhamentos de aminoácidos nas proteínas, a fase de leitura aberta 8 (ORF8 – do inglês, *Open Reading Frames*) e a fase de leitura aberta 10 (ORF10) do SARS-CoV-2 são claramente divergentes de outros vírus. No entanto, a maioria das outras ORFs do SARS-CoV-2 foram conservadas. A homologia de nucleotídeos genómicos entre o SARS-CoV-2 e a estirpe de coronavírus semelhante ao SARS BatCov RaTG13 é de 96%. Em comparação com outros vírus, a divergência do SARS-CoV-2 sem impacto na sequência de aminoácidos é de 17%, muito maior do que o avaliado anteriormente. O gene da proteína *spike* exhibe mutações silenciosas (alterações nos nucleótidos sem alteração nos respetivos aminoácidos) maiores do que outros genes, o que pode ser devido a elevadas taxas de mutação e seleção natural das sequências mais adequadas à infecciosidade do vírus. Foram identificados e sequenciados 103 genomas de SARS-CoV-2 para análise das variantes genéticas. Entre as 103 estirpes, um total de 149 mutações foram identificadas e as análises genéticas populacionais indicaram que essas estirpes podem ser divididas principalmente em dois tipos. Os resultados sugerem que 101 das 103 estirpes de SARS-CoV-2 serão relacionadas, na medida em que as mutações pontuais responsáveis pelos polimorfismos de nucleótido único (SNPs), nos locais 8.782 e 28.144 do genoma, identificam um tipo L e um tipo S de SARS-CoV-2. O tipo L será responsável por 70% das 103 estirpes e o tipo S por 30%. Apesar do tipo L ser mais prevalente do que o tipo S, este último parece ser a versão ancestral do SARS-CoV-2 (8).

1.2. Taxonomia

Os coronavírus (CoV) pertencem à subfamília *Coronavirinae* na família *Coronaviridae* da ordem *Nidovirales*, causam doenças respiratórias, digestivas e do sistema nervoso em humanos e em muitos outros animais (9). As partículas do coronavírus são esféricas com um diâmetro de aproximadamente 80 a 160 nm. A superfície do invólucro lipídico encontra-se coberta de espículas, proteínas de membrana (M) e proteínas do envelope (E), localizadas entre as proteínas S. O RNA genómico e a proteína da nucleocápside fosforilada (N) formam um nucleocapsídeo em espiral, que se localiza dentro do invólucro (10,11). O genoma do coronavírus é composto por um RNA de cadeia simples de sentido positivo variando de 26 Kb a 32 Kb de comprimento, constituindo o mais longo genoma conhecido entre os vírus de RNA (10). Este genoma tem uma estrutura de mRNA funcional, com um cap na extremidade 5'P' e uma cauda de poli(A) na extremidade 3'-OH. Na estrutura genómica do RNA viral identificaram-se vários quadros de leitura aberta (ORFs), dos quais o primeiro (ORF1) próximo da extremidade 5'P' codifica 16 proteínas não estruturais (nsp1-16) envolvidas na replicação e transcrição viral. As restantes outras ORFs codificam as quatro proteínas estruturais principais (S, M, N e P) e oito proteínas acessórias (3a, 3b, p6, 7a, 7b, 8b, 9b e ORF14), que desempenham papéis importantes no ciclo infeccioso do vírus e na montagem de partículas virais (9,12,13).

1.2.1. Estrutura

Os coronavírus são vírus de genoma RNA de cadeia simples positiva com invólucro lipídico. Incluem quatro géneros: Alphacoronavírus (α -CoV), Betacoronavírus (β -CoV), Gammacoronavírus (γ -CoV) e Deltacoronavírus (δ -CoV) (3,14).

O genoma contém 14 ORFs, dois terços dos quais codificam proteínas não estruturais (nsp 1-16) que compõem o complexo da replicase. O terço restante das ORFs codifica nove proteínas acessórias e quatro proteínas estruturais: *spike* (S), *envelope* (E), membrana (M) e nucleocápside (N). A proteína *spike* (S) medeia a entrada do SARS-CoV nas células hospedeiras. No entanto, o gene S do SARS-CoV-2 diverge muito do respetivo gene do SARS-CoV, partilhando menos de 75% de homologia entre os nucleótidos. A proteína *spike* tem um domínio de ligação ao recetor (do inglês *Receptor Binding Domain* - RBD) que medeia o contacto direto com o recetor celular da enzima de

conversão da angiotensina 2 (ACE 2) e um local de clivagem polibásico S1/S2, destinado a ser clivado proteoliticamente pela catepsina L celular e a protease transmembranar de serina 2 (TMPRSS2) (12,15).

As diferenças entre o SARS-CoV e o SARS-CoV-2 encontram-se principalmente na proteína S, na ORF8 e na ORF3b, como se podem observar na figura seguinte (1.2.1.).

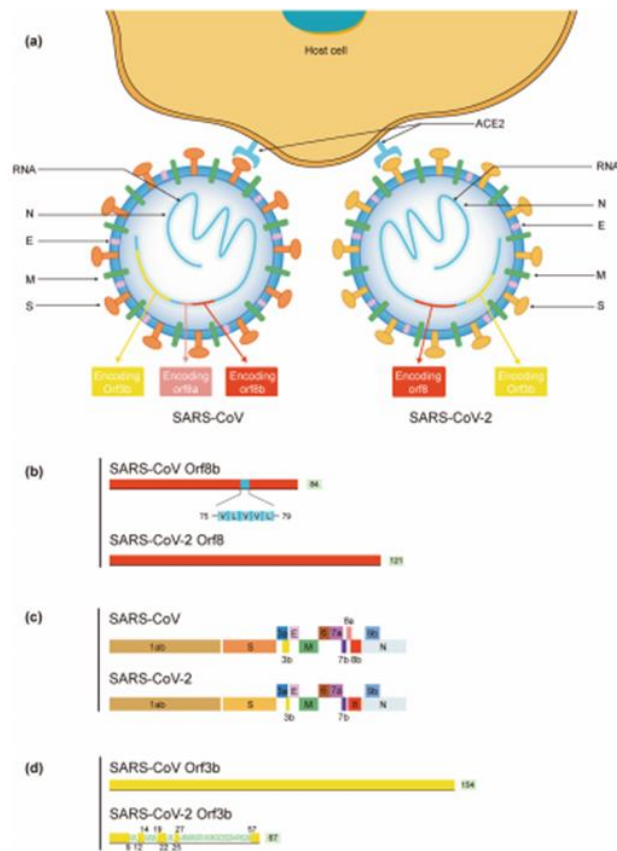


Figura 1.2.1. Distinção entre a composição em aminoácidos e a estrutura proteica do SARS-CoV e do SARS-CoV-2 (9).

Legenda: (a) O subdomínio externo do recetor de ligação da proteína *spike* no SARS-CoV-2 apenas partilha 40% de semelhança (em aminoácidos) com outros SARS-CoV.

(b) No SARS-CoV-2, a ORF8 não contém um domínio funcional conhecido enquanto que o SARS-CoV sim.

(c) A proteína ORF8 está ausente no SARS-CoV-2; existem 121 aminoácidos que codificam a proteína 8b no SARS-CoV-2, enquanto que apenas 84 estão envolvidos no SARS-CoV.

(d) ORF3b do SARS-CoV-2 apresenta uma nova proteína com quatro hélices e 67 aminoácidos

que codificam a proteína 3b, enquanto que 154 aminoácidos estão envolvidos o SARS-CoV.

A protease TMPRSS2 facilita a entrada do vírus pela membrana plasmática, enquanto a catepsina L ativa a *spike* do SARS-CoV-2 nos endossomas, podendo compensar a entrada nas células sem ativação da protease TMPRSS2. Uma vez que o genoma é libertado no citosol do hospedeiro, as ORF1a e ORF1b são de imediato traduzidas nas proteínas que funcionam como replicases virais. Estas são então clivadas em proteínas não estruturais individuais, entre as quais a RNA polimerase RNA dependente. Aqui, os componentes da replicase reorganizam o retículo endoplasmático (ER) em vesículas de membrana dupla que facilitam a replicação viral de RNA's genómicos e subgenómicos, todos eles responsáveis também pela tradução das proteínas estruturais virais acessórias que promovem a formação de partículas virais (16).

1.3. Replicação

Tal como no SARS-CoV, a proteína S do SARS-CoV-2 auxilia na invasão celular pela ligação aos recetores da Enzima Conversora da Angiotensina 2 (ACE2) à superfície das células hospedeiras. Depois de se ligar ao recetor, o vírus chega ao citosol da célula hospedeira por fusão de membranas mediada pela clivagem proteolítica da proteína S realizada por uma catepsina, pela TMPRSS2 ou por outra protease. A fusão das membranas viral e celular resulta na libertação do genoma viral no citoplasma (17).

A síntese de RNA viral segue a tradução e montagem dos complexos de replicase viral. A síntese de RNA viral produz RNA's genómicos e subgenómicos. Os RNA's subgenómicos são utilizados como mRNA's para os genes estruturais e acessórios que se localizam a jusante das poliproteínas da replicase. Estes RNA's subgenómicos localizam-se na extremidade 3'-OH da cadeia positiva do genoma viral, existindo uma sobreposição de sequências característica deste tipo de vírus. A designação da ordem *Nidovirales* decorre do facto destes RNA se "aninharem" na extremidade do genoma viral. Tanto os RNA's genómicos como os subgenómicos são transcritos de RNA's intermediários de cadeia negativa, os anti-genómicos. Talvez o aspeto mais relevante da replicação deste vírus seja como os segmentos de regulação da transcrição (TRS) da região líder e do corpo se fundem durante a produção de RNA's subgenómicos. Inicialmente, acreditou-se que este fenómeno poderia ocorrer durante a síntese da cadeia positiva, mas agora julga-se que ocorra durante a extensão descontínua do RNA anti-genómico, de cadeia negativa. O modelo atual propõe que a polimerase do RNA (RdRp) faça uma pausa em qualquer uma das sequências do TRS do corpo (TRS-B); após esta pausa, a RdRp continua o alongamento para o próximo TRS ou muda para amplificar a sequência líder na extremidade 5' do genoma guiado pela complementaridade do TRS-B com o TRS líder (TRS-L). Muitas evidências atualmente apoiam este modelo, incluindo a presença de sequência anti-líder na extremidade 3' dos RNA's anti-genómicos de cadeia negativa. No entanto, muitas questões remanescem para definir totalmente o modelo. As respostas serão necessárias para obter uma perspetiva completa de como a replicação do RNA ocorre nos coronavírus. Importa ainda referir que os coronavírus também são conhecidos pela sua capacidade de se recombinar usando recombinação homóloga e não homóloga. A capacidade de recombinação desses vírus estará ligada à capacidade de troca de RNA's pela RdRp. A par das mutações, a recombinação

desempenhará, provavelmente, um papel proeminente na evolução viral. Estes mecanismos de recombinação serão ferramentas de genética reversa usadas para gerar recombinantes virais na extremidade 3'-OH do genoma (5,18–20).

1.4. Transmissão

A transmissão deste coronavírus ocorre predominantemente por gotículas respiratórias ou por aerossóis formados ao falar ou cantar. A transmissibilidade é facilitada em ambientes fechados e por exposição prolongada às partículas virais. Porque se replica predominantemente na árvore respiratória, este vírus encontra-se principalmente nas secreções respiratórias e na saliva. Dada a labilidade do RNA que o constitui, a transmissão por fômites, apresenta um risco considerado muito baixo (9).

Os vírus suscetíveis de infetar outros hospedeiros são emitidos por indivíduos infetados, quer estes tenham sintomas da doença ou sejam assintomáticos. A emissão de vírus por pessoas assintomáticas pode representar 40–50% do número total de infeções, embora permaneça alguma incerteza ainda sobre quanto estas contribuem para os totais. A transmissão viral pode anteceder os sintomas em até 3 dias ou mais. Os títulos virais são mais elevados nas fases iniciais da infeção, 1-2 dias antes do início dos sintomas e, nos primeiros 4-6 dias de doença em doentes não imunocomprometidos (6).

O motivo pelo qual se julga que ocorre a transmissão rápida e generalizada não se encontra completamente esclarecido, no entanto uma provável explicação deve-se ao facto de pessoas infetadas de forma assintomática poderem emitir o vírus e propagá-lo de forma eficaz mais facilmente pela ausência de medidas preventivas na ausência de sintomas (6). Alguns são “super” disseminadores, o que pode ser devido a características inerentes (por exemplo, quando a fala gera aerossóis, falam alto, etc). Reuniões de massa, especialmente em ambientes fechados, em espaços menores ou com ventilação insuficiente, parecem melhorar a transmissão. Esta é em grande parte a razão por trás da recomendação para o uso universal de máscara de proteção (21). A propagação por aerossol parece facilitada em alguns ambientes, sendo que será tanto mais eficaz quanto maior for a concentração de vírus que atinjam o hospedeiro alvo. O distanciamento físico de pelo menos dois metros continua a ser uma recomendação que se justifica pelo gradiente de concentração do vírus que se forma desde o emissor até ao recetor. Face à possibilidade da emissão do vírus poder ser mais energética por espirros, por exemplo, que levam maiores concentrações de vírus nos aerossóis a maior distância, continua a justificar-se o uso cumulativo da máscara de proteção (22). Até ao momento, não houve um surto bem documentado relacionado com a transmissão de aerossol à distância (por

exemplo, por meio de sistemas ventilatórios HVAC ou ventilação de avião). Seja em gotículas ou aerossóis, a preocupação com a disseminação por pessoas sintomáticas ou não, mas infectadas, é a justificativa para o uso universal de máscaras em público, e em todos os casos deve-se manter o distanciamento físico de pelo menos dois metros. No ciclo da infecção humana, provavelmente por deglutição das secreções respiratórias, os vírus são também eliminados nas fezes, não sendo evidente o seu potencial papel da propagação da infecção. A presença de vírus nas fezes das pessoas infectadas pode ser usado como ferramenta para caracterizar e mesmo prever potenciais surtos infecciosos na comunidade (16,17,23,24).

1.5. Patologia

1.5.1. Dano direto induzido pelo SARS-CoV-2

Quando o vírus SARS-CoV-2 invade o corpo humano, o RBD na subunidade S1 da proteína S liga-se ao recetor ACE2 que se expressa na superfície da célula hospedeira. Seguidamente, a conformação da proteína S sofre um rearranjo estrutural significativo, originando a libertação da subunidade S1 e transição da subunidade S2 para uma conformação pós-fusão altamente estável, que por sua vez medeia a fusão do vírus com a membrana da célula hospedeira e entrada na célula. A ligação da proteína S do vírus ao recetor ACE2 induz a sua inativação como mediador de processos inflamatórios. O vírus SARS-CoV-2 multiplica-se então e leva à lise da célula hospedeira, causando assim extenso dano alveolar, responsável pelos Sintomas de Dificuldade Respiratória Aguda (do inglês *Acute Respiratory Distress Syndrome* - ARDS) em doentes infetados (12,15).

1.5.2. Sintomas

Os sintomas podem aparecer 2 a 14 dias após a exposição ao vírus e infeção. Entre os mais comuns, encontra-se a febre (temperatura $\geq 38^{\circ}\text{C}$) e os calafrios (44%-98%), a tosse (46%-82%, geralmente seca), falta de ar inicial (31%), mialgia ou fadiga (11%-44%), perda de paladar ou olfato, dor de cabeça, dor de garganta, congestão nasal, rinorreia e náuseas, vômitos ou diarreia. Podem existir também sintomas menos frequentes, pressão ou dor no peito, confusão, cianose, alterações na pele (25).

Relativamente à variante delta, os sintomas mais frequentes são dor de cabeça, dor de garganta, corrimento nasal e febre. Neste caso, a tosse e a perda de olfato são menos comuns (25).

Estes sintomas podem ser diferentes dependendo das idiosincrasias individuais e da estirpe ou mutante do vírus em particular.

1.5.3. Diagnóstico

1.5.3.1. Testes moleculares de amplificação genética (TAAN)

Esta doença não apresenta um diagnóstico clínico evidente e facilmente distinguível de outras entidades. Os sintomas de uma infecção respiratória viral podem ser causados por outros agentes como os vírus Influenza, os vírus respiratórios sinciciais ou bactérias, também responsáveis por pneumonias. Apesar de não poder ser considerado elemento de diagnóstico definitivo, um fator preponderante que ocorre com elevada frequência no SARS-CoV-2 comparativamente com outros vírus respiratórios é a anosmia e a disgeusia (25).

Atualmente o diagnóstico é exclusivamente laboratorial, pela detecção de componentes do vírus, através de Testes Moleculares de Amplificação de Ácidos Nucleicos (TAAN), onde se incluem os testes RT-PCR convencional, em tempo real ou através da detecção de proteínas virais por técnicas imunológicas com Testes Rápidos de Antígeno (TRAg). Estes últimos devem ser efetuados nos primeiros cinco dias de sintomas para diminuir a obtenção de falsos negativos (26).

Nos testes de amplificação genética, o RNA viral presente na amostra é amplificado por técnica de RT-PCR (reação em cadeia de polimerase com recurso à transcriptase reversa) e detetado, em tempo real pela hibridação com semáforo molecular. Este emite fluorescência quando a sequência do vírus, complementar do reagente, está presente. Dada a necessidade de processar a amostra para a extração do RNA viral e do equipamento necessário à execução dos ciclos de amplificação e para a deteção da fluorescência emitida pela sonda, estes testes não são de muito rápida execução e precisam de equipamento específico só disponível em laboratório (25,26).

1.5.3.2. Testes rápidos de antígeno (TRAg)

Os testes rápidos juntaram-se aos testes moleculares, já conhecidos, usados desde a primeira vaga da doença e realizados em laboratório com equipamento específico. Para além dos testes moleculares de amplificação genética foram ainda considerados testes de diagnóstico, os designados testes rápidos de antígeno (TRAg), que utilizam uma técnica imunocromatográfica para a deteção de proteínas específicas do vírus SARS-CoV-2 (26,27).

Nestes TRAg os resultados são obtidos num prazo mais curto, frequentemente de minutos, e não carecem de qualquer equipamento laboratorial que não os biossensores específicos. A sua simplicidade de execução e rapidez constituem as suas grandes mais valias e relevância para a deteção rápida do agente infeccioso. Podem ser efetuados no local da colheira da amostra nasofaríngea e o resultado ser conhecido enquanto o rastreado ainda está presente. Este facto viabiliza a possibilidade de, de imediato, poder cortar a cadeia de transmissão do indivíduo infetado (27).

Quando comparados com os TAAN, os TRAg apresentam as vantagens da rapidez e facilidade de execução e menos frequentes falsos positivos. Têm também inconvenientes pelas suas limitações (26):

- ✚ Ser menos sensível que os testes PCR;
- ✚ Funcionar melhor com cargas virais elevadas, que normalmente ocorre 1 a 3 dias antes dos primeiros sintomas ou 5 a 7 dias após os primeiros sintomas;
- ✚ Presença de falsos negativos nos doentes com cargas virais baixas, podendo não detetar doentes infetados em fase inicial assintomática ou com infeção ligeira;
- ✚ Apesar de pouco frequente, existe a possibilidade de falsos positivos, devido a potencial reação imune cruzada.

Tal como no teste realizados pelo método de PCR, ambos pesquisam a presença de componentes do vírus na amostra. Também para ambos os testes, é necessário recorrer a amostras suscetíveis de conter o vírus, como sejam os esfregaços nasofaríngeos.

1.5.4. Prevenção e Tratamento

Relativamente à prevenção, são indicadas como medidas fundamentais (28–34):

- ✚ Higienização das mãos, uma vez, que a adequada lavagem das mãos, com água e sabão ou a utilização de solução antisséptica de base alcoólica (SABA) – 70% de álcool, peróxido de hidrogénio, glicerina e água purificada, pro-

porciona a eliminação do novo coronavírus das superfícies (nomeadamente a pele) impedindo que este se transmita pelo manuseamento ou contacto;

- ✚ Etiqueta respiratória, ao tossir ou espirrar deve-se tapar o nariz e a boca com um lenço de papel descartável ou na ausência deste para o braço ou antebraço;
- ✚ Distanciamento social, de no mínimo 1 metro de distância ou pelo menos dois metros em ambientes fechados, que pretende quebrar as cadeias de transmissão do vírus, visto que limita os contactos próximos entre a população;
- ✚ Higienização e desinfeção das superfícies, uma vez, que elimina, destrói ou inativa os microrganismos. Além da higiene pessoal, também é necessário estimular a limpeza ambiental e deve-se proceder à limpeza de superfícies, tais como puxadores, maçanetas, teclados, telefones ou comandos, entre outros diminuindo o risco de propagação para nós e para outras pessoas;
- ✚ Auto monitorização de sintomas, nomeadamente a medição da temperatura e a confirmação da ausência de sintomas respiratórios (intensificação da tosse habitual e dispneia/dificuldade respiratória) que permitem identificar casos suspeitas de COVID-19 e encaminhar aos serviços de saúde;
- ✚ Proteção individual, correta colocação, utilização e remoção de todo o equipamento de proteção individual (EPI), e;
- ✚ Informação, quando clara e sistematizada, é um importante meio para comunicar medidas e soluções sobre a COVID-19, diminuindo a incerteza e a ansiedade e evitando o pânico desnecessário.

Na prevenção, a medida mais recentemente instaurada em todo o mundo é a vacinação. Existem já diversas vacinas aprovadas pela *European Medicines Agency* – EMA, tais como:

- ✚ Vacina Comirnaty (Pfizer/BioNTech) – mRNA modificado (35),
- ✚ Vacina Vaxzevria (AstraZeneca/Oxford) - vetor adenoviral recombinante que codifica o antigénio da proteína *spike* do SARS-CoV-2 (36),

- ✚ Vacina Spikevax (Moderna) – baseada em mRNA encapsulado em nanopartículas lipídicas (LNP) (37), e
- ✚ Vacina COVID-19 Vaccine Janssen – Janssen-Cilag – vetor de adenovírus recombinante (incompetente para replicação) que codifica a proteína *spike* (S) (38).

Para além das quatro vacinas autorizadas e em uso na União Europeia, outras se encontram em fases de ensaios clínicos e em processo de revisão na Agência Europeia do Medicamento, aguardando concessão de AIM (39).

Quanto ao tratamento, sabe-se, que os cuidados de saúde dependem da capacidade dos sistemas de saúde para os prestar. Por isso, para diminuir a sobrecarga dos serviços de saúde, as autoridades recomendam que os doentes com sintomatologia leve fiquem em casa, não recorram a atendimento presencial e monitorizem os sintomas. Em ambiente hospitalar, o tratamento consiste na administração de oxigénio, ventilação mecânica e se necessário a colocação na posição de decúbito ventral, se a hipoxémia piorar apesar da intubação e ventilação. Na unidade de cuidados intensivos (UCI), os doentes apresentam elevadas taxas de coagulação, e, portanto, a profilaxia anticoagulante é essencial (40).

Vários tipos de fármacos estão aprovados e a ser investigados, nomeadamente antivíricos, imunomoduladores, antibióticos empíricos, antifúngicos e antagonistas de proteínas superficiais, assim como as lecitinas.

Dentro dos antivíricos:

- ✚ Remdesivir (RDV) – aprovado pela FDA (outubro de 2020);
- ✚ Oseltamivir;
- ✚ Ganciclovir;
- ✚ Fluvoxamina – fase 2, dados sugerem benefícios;
- ✚ Ivermectina – fase 2 do estudo, pensou-se em tempos que poderia ter benefícios, mas à luz dos conhecimentos atuais não existem benefícios (41);
- ✚ Lopinavir/ritonavir (LPV/RTV) – não foram comprovados benefícios, mas foi administrado em estados tardios da doença, e;

- ✚ Cloroquina (CQ) ou Hidroxicloroquina (HCQ) – sem benefícios clínicos e com problemas de cardiotoxicidade;

Dentro do imunomoduladores:

- ✚ Corticosteróides (dexametasona);
- ✚ Baricitinib – aprovado pela FDA;
- ✚ Interferão 1b – em combinação tripla com o lopinavir/ritonavir e ribavirin;
- ✚ Tocilizumab (anti-IL6) – estudos mostram benefícios, e;
- ✚ Anakinra (anti-IL1), anti-GM-CSF e GM-CSF - potenciais fármacos ainda em estudo.

Terapias baseadas em anticorpos:

- ✚ Plasma convalescente ou sêrum contendo anticorpos neutralizantes contra o SARS-CoV-2 – aprovado pela FDA;
- ✚ Anticorpos monoclonais:
 - Bamlanivimab e etesevimab, e;
 - Casirivimab e imdevimab (3,9,22,40,42–44).

1.6. Dados epidemiológicos a nível nacional e internacional

Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) indicam, que a COVID-19 já matou aproximadamente 4 milhões e 927 mil pessoas no mundo desde 2019 (ano de aparecimento do vírus SARS-CoV-2) e estiveram infetadas cerca de 242 milhões de pessoas. A nível continental, a Europa apresentou um dos piores cenários com 74 milhões de casos e 1 milhão e 394 mil mortes. Atualmente, em Portugal já foram contabilizados 1 milhão e 82 mil casos e 18 mil mortes (45).

Na tabela 1.6. estão apresentados os valores totais de casos e mortes por área geográfica (45).

Tabela 1.6. Número total de casos e mortes por COVID-19 por área geográfica

<i>Área geográfica</i>	Casos cumulativos – total	Mortes cumulativas – total
<i>Global</i>	242 348 657	4 927 723
<i>Pacífico</i>	9 192 345	298 038
<i>Ocidental</i>		
<i>África</i>	6 126 401	149 696
<i>Mediterrâneo</i>	16 200 413	298 038
<i>Oriental</i>		
<i>Sudeste</i>	43 722 592	686 348
<i>Asiático</i>		
<i>Américas</i>	92 640 794	2 272 988
<i>Europa</i>	74 465 348	1 394 726
<i>Portugal</i>	1 082 721	18 117

Na imagem seguinte, podemos observar o número de casos de COVID-19 no mundo, por 100 mil habitantes na semana 36 e 37 (de 06/09/2021 até 19/09/2021) (46).

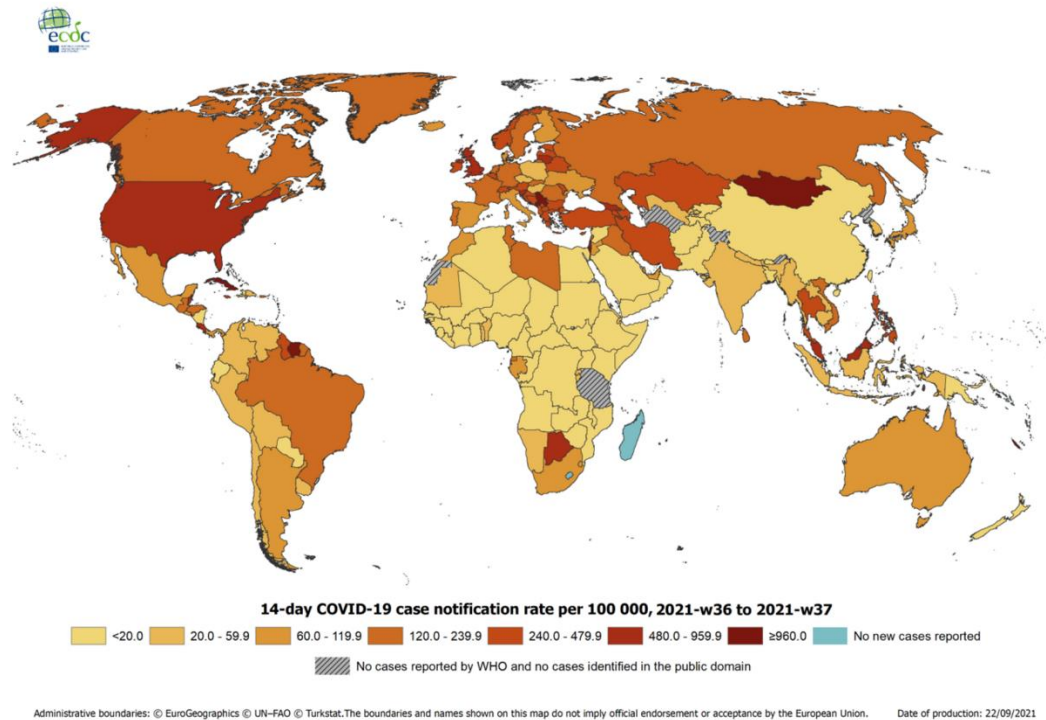


Figura 1.6. Número de casos COVID-19 por 100 mil habitantes, no mundo durante a semana 35/36 (06/09/2021 – 19/09/2021) (46).

No período de 30 de dezembro de 2019 a 3 de maio de 2021, pode-se observar na figura 1.6.1. o número de casos e de mortes por faixa etária.

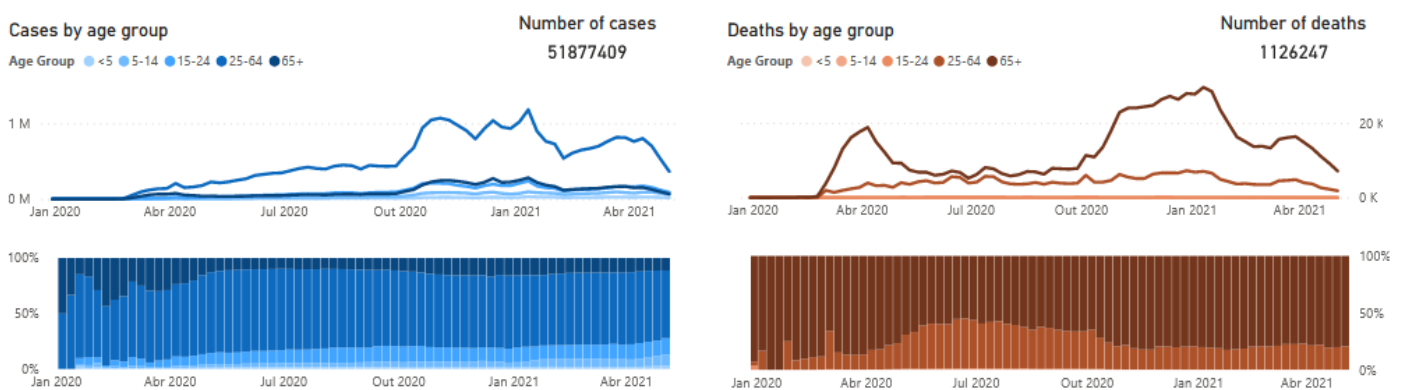


Figura 1.6.1. Evolução de casos e mortes no mundo, respetivamente, por faixa etária, entre 30/12/2019 e 03/05/2021 (46).

No gráfico 1.6. pode-se observar o aparecimento e a evolução de novos casos em Portugal no mês de março do ano de 2020.

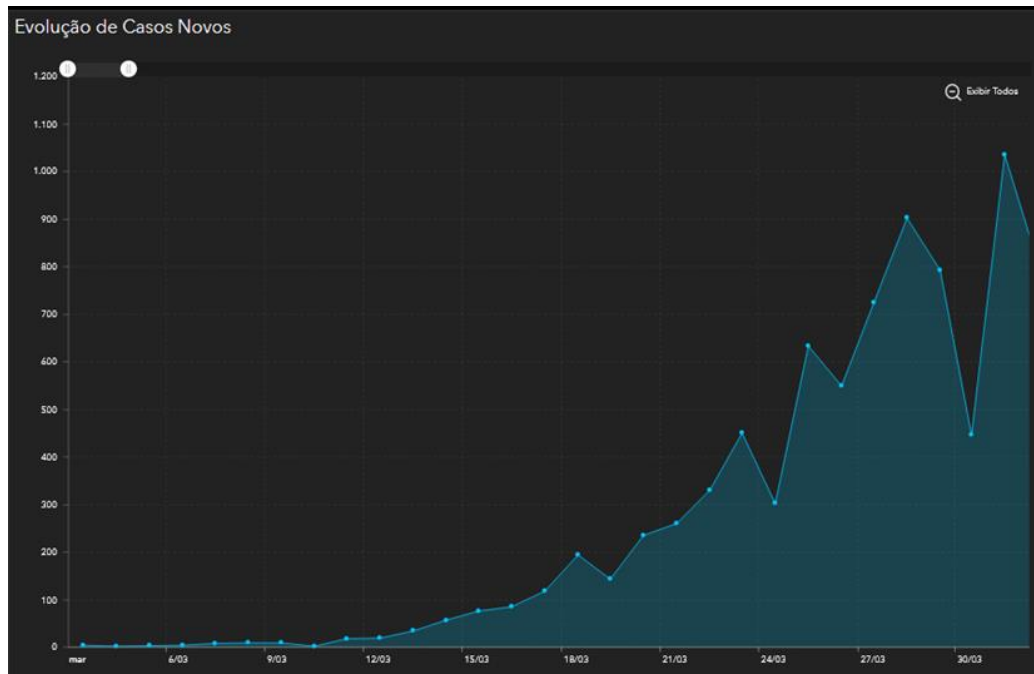


Gráfico 1.6. Aparecimento e evolução do número de novos casos em Portugal no mês de março de 2020 (46).

No gráfico 1.6.1. pode-se analisar a evolução do número de casos em Portugal no período compreendido entre o surgimento da pandemia (março de 2020) a setembro de 2020.

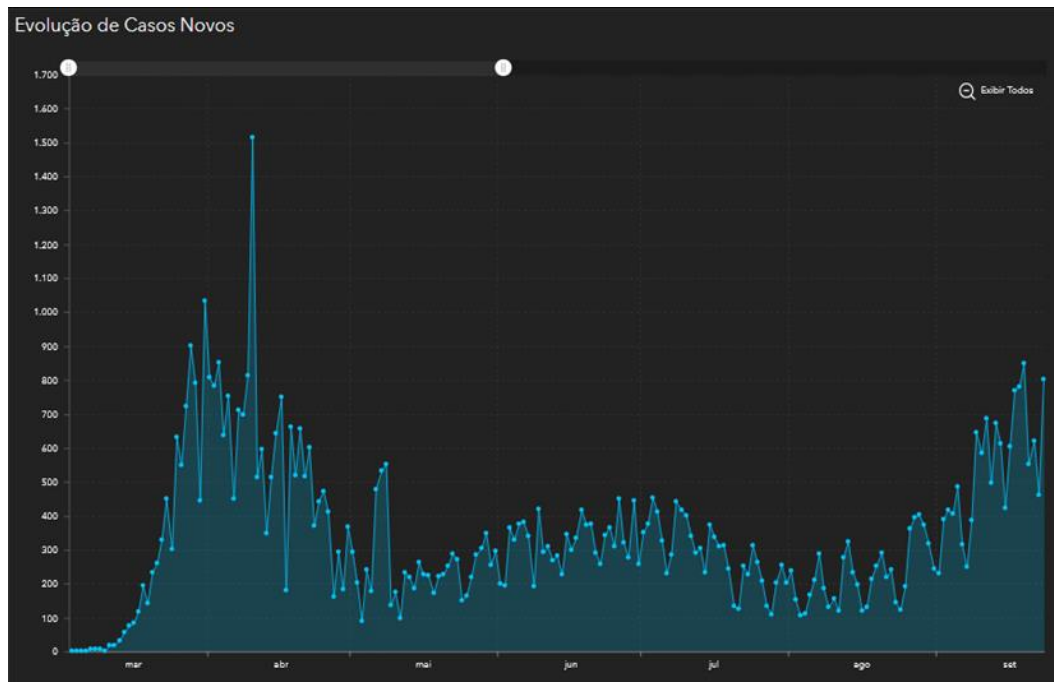


Gráfico 1.6.1. Evolução do número de casos em Portugal entre março de 2020 e setembro de 2020 (46).

1.7. Testes Serológicos

Os testes serológicos de pesquisa de anticorpos têm como objetivo identificar eventual exposição anterior ao vírus com resposta imunitária consequente. Sempre que ocorre infecção, o sistema imunitário reage diferenciando os seus linfócitos B para a produção de anticorpos específicos do antigénio. A avaliação da presença destes anticorpos específicos é indicador da existência prévia de reação imune (27).

Existem múltiplos testes imunológicos de tipo quantitativo e qualitativo para pesquisa de anticorpos individuais anti-SARS-CoV-2, relevando em particular as imunoglobulinas de tipos IgA, IgG e IgM. O teste imunológico de referência é a ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*) usualmente aplicada para a quantificação de anticorpos específicos. Como testes qualitativos de fácil execução relevam os testes rápidos imunocromatográficos. Excluindo as IgA, que se produzem mais abundantemente nas mucosas, as IgG e as IgM podem ser detetadas no sangue periférico (27).

No âmbito das respostas imunitárias, os anticorpos específicos podem começar a ser detetados entre uma a três semanas após a exposição ao antigénio, sendo que primeiro se exprime a IgM para depois do *switch* de cadeia passar a exprimir mais abundantemente a IgG específica (27).

Sendo testes de deteção da resposta imunológica, que só ocorre mais tardiamente na infecção, estes testes não podem ser considerados de diagnóstico, que, no caso da pandemia COVID-19, se quer rápido. De facto, a resposta imunológica na infecção por SARS-CoV-2 é detetada a partir da segunda semana de infecção, ou seja, cerca de 8 a 10 dias após o início dos sintomas, altura em que a infecção aguda pelo SARS-CoV-2 estará frequentemente terminada. A taxa de seroconversão e os níveis de anticorpos aumentam rapidamente durante as primeiras semanas. A seroconversão da IgM e IgG parece ocorrer entre a terceira e a quarta semana depois do início da infecção. Depois disso, os títulos de IgM diminuem, comparativamente com a IgG que pode persistir para além das sete semanas após a infecção por SARS-CoV-2 (27).

Os testes para a deteção de anticorpos, são de extrema importância, pois permitem estudar a prevalência da doença na população, identificando indivíduos que possam não ter sido atempadamente diagnosticados, mas que desenvolveram anticorpos específicos (27). Releva também aqui, no contexto atual, a utilização dos testes imuno-

lógicos para a verificação do estado vacinal pela deteção de anticorpos específicos do antigénio usado na vacina, a proteína S nas vacinas disponíveis na Europa.

Apesar da sua limitada utilidade clínica (no diagnóstico de COVID-19), como se refere (27) estes testes podem ser utilizados em estudos epidemiológicos populacionais (de seroprevalência), como é o caso dos dados que aqui se reportam e como foram também os dados dos Inquéritos Serológicos Nacionais COVID-19 executados pelo INSA (27).

Dado que os anticorpos dos tipos IgG e IgM são proteínas séricas, os ensaios imunológicos (imuno-enzimáticos ou imunocromatográficos) terão de ser efetuados em amostras de sangue total, plasma ou soro (26,27).

1.7.1. Elisa

Os imunoensaios pelo método ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*) são realizados em placas de poliestireno, normalmente com 96 poços revestidos, a fim de, promover uma ligação de proteínas ao suporte. Dependendo do tipo de ELISA, o teste requer um anticorpo de deteção primário e / ou secundário, antigénio, anticorpo / antigénio de revestimento, tampão, lavagem e substrato cromogénio. O anticorpo de deteção primário é um anticorpo específico que se liga apenas à proteína de interesse, enquanto que, um anticorpo de deteção secundário é um segundo anticorpo, conjugado com uma enzima e específico do anticorpo primário (47). Têm ainda a vantagem de poder ser automatizados e realizados em grande número.

As principais etapas para executar um imunoensaio de ELISA (48) são:

- ✚ Revestimento da placa com antigénio (ou anticorpo);
- ✚ Bloqueio dos locais da placa não preenchidos com a primeira proteína (normalmente albumina de soro bovino - BSA);
- ✚ Reação imune do primeiro anticorpo com o antigénio (ou do antigénio com o anticorpo que reveste a placa);
- ✚ Reação do segundo anticorpo (conjugado com enzima) com o primeiro anticorpo (ou com o antigénio);

- ✚ Reação enzimática de conversão do substrato cromogénico pela enzima conjugada do segundo anticorpo;
- ✚ Leitura da intensidade de cor do substrato convertido.

Existem diversos substratos solúveis disponíveis para uso na deteção de ELISA, dependendo da enzima conjugada com o segundo anticorpo. As enzimas mais utilizadas são a peroxidase e a fosfatase alcalina, sendo que os respetivos substratos mais frequentemente usados são o OPD (orto-fenileno-diamina) e o pNPP (para-nitrofenil-fosfato) (48).

Entre cada uma das etapas acima indicadas existirá sempre uma “lavagem” da placa usando um tampão, como solução salina tamponada com fosfato (PBS) e um detergente não iónico, para remover o material não ligado. Os poços são lavados duas ou mais vezes durante cada etapa de lavagem, dependendo do protocolo específico a ser seguido (49,50).

Com base na técnica base da ELISA, são inúmeras as variantes suscetíveis de ser usadas com diversos objetivos. São os casos, por exemplo, das designadas Elisa direta, Elisa indireta, Elisa de sanduiche e Elisa competitiva (47,48):

A técnica de Elisa de referência e que é mais frequentemente usada é a Elisa indireta, em que o antigénio se liga à placa, o anticorpo em estudo liga-se ao antigénio e o segundo anticorpo conjugado liga-se ao primeiro. Exemplifica-se na figura abaixo as etapas para a realização da Elisa indireta. Podendo parecer desejável a Elisa direta, por omissão do segundo anticorpo, evitando assim as potenciais reações cruzadas deste e por ser de mais rápida execução, de facto não é a técnica mais utilizada. Esta técnica é mais dispendiosa e obriga à conjugação da enzima reveladora com todos os anticorpos a estudar. Na Elisa indireta, o conjugado específico da espécie do primeiro anticorpo pode ser usado com qualquer anticorpo da mesma espécie em estudo e está disponível comercialmente.

Na figura 1.7.1. encontra-se ilustrado o funcionamento do método ELISA. Onde se pode observar do lado esquerdo da figura a preparação dos poços da placa, nomeadamente as soluções-padrão (controles positivo e negativo), com uma camada inicial de

antigénio, a ligação do anticorpo em estudo e do anticorpo conjugado (opcional) e a passagem com um substrato. Este substrato vai permitir observar a reação através do aparecimento de uma coloração, como se pode verificar do lado direito da figura.

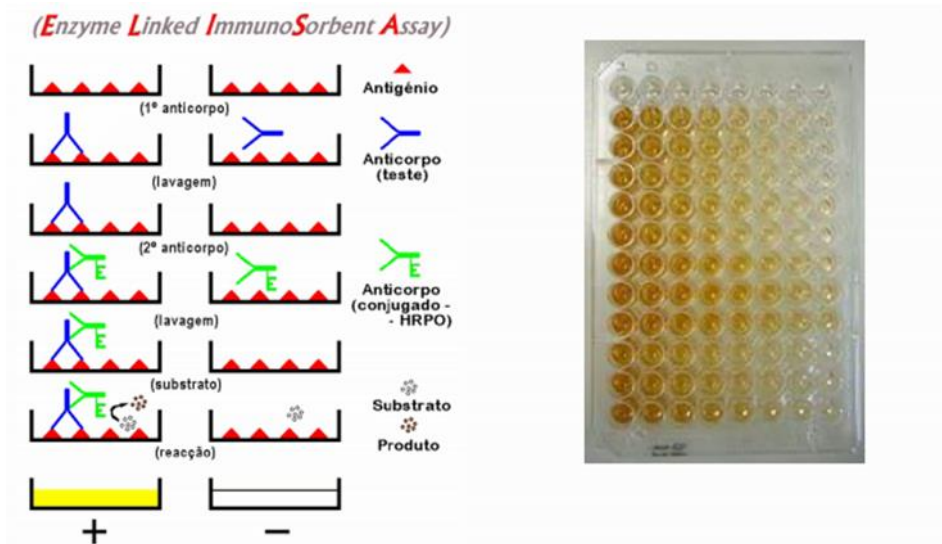


Figura 1.7.1. Ilustração pelo método de ELISA (47).

1.7.2. Testes rápidos

Os testes não automatizáveis ou testes rápidos, são considerados dispositivos médicos com marcação CE e registo na União Europeia para diagnóstico *in vitro*. São utilizados para a avaliação qualitativa em pequenas séries. São de tipo imunocromatográfico, têm baixa complexidade de execução técnica e permitem a obtenção dos resultados entre 10 a 30 minutos. Dado tratar-se de testes qualitativos tendem a ser menos sensíveis que os testes quantitativos ou semi-quantitativos de deteção de anticorpos (26,27).

A tecnologia dos testes rápidos imunocromatográficos é aplicada para diversas situações clínicas, que vão desde a deteção da gravidez, à deteção de anticorpos específicos anti-SARS-CoV-2 ou à deteção de hemoglobina humana nas fezes, por exemplo. Trata-se de um teste imunocromatográfico de fluxo lateral em fita, designado em inglês pela sigla LFICS (*Lateral Flow ImmunoChromatography Strip*). O dispositivo que contém esta fita é portátil, usualmente barato, não requer outro equipamento nem consome

energia. Identificam-se neste biossensor várias zonas sendo que as mais relevantes e que se encontram acessíveis no dispositivo são a zona de aplicação da amostra (por vezes também um local de aplicação do tampão de diluição), a zona de controlo (banda na posição C – *control*) e a zona de reação (banda na posição T – *test*). Nas figuras seguintes (1.7.2. e 1.7.3., respetivamente) ilustra-se um biossensor com a identificação dos diferentes locais e os esquemas de uma reação positiva e de uma reação negativa (26,27).

Na figura 1.7.2. podemos observar um biossensor parcialmente aberto, onde se localiza ao longo da fita imunocromatográfica o local de colocação da amostra, a zona conjugada, a membrana que contém a linha do teste e a linha do controlo e por fim a zona absorvente do excesso de líquido.

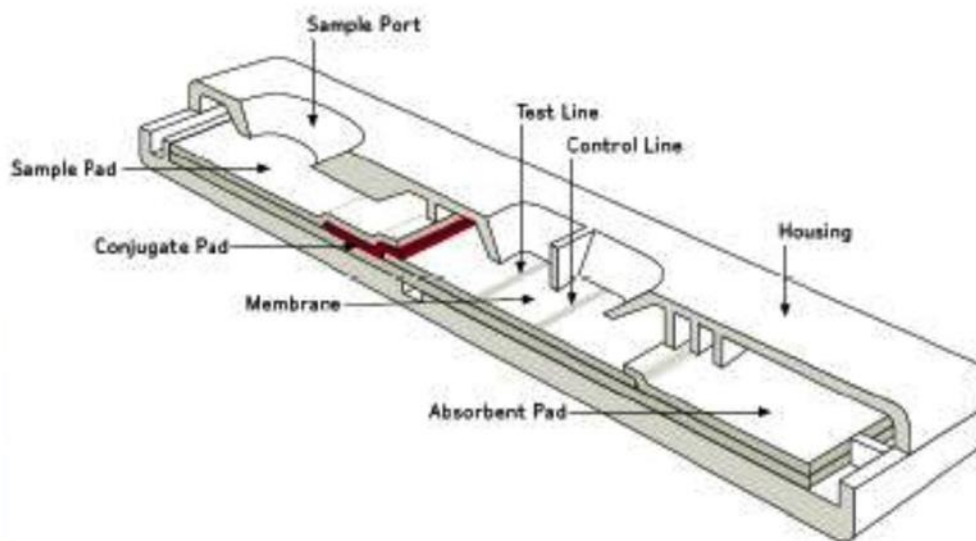


Figura 1.7.2. Componentes do biossensor dos testes rápidos COVID-19 (51).

Na figura 1.7.3., na primeira reação (positiva) podemos observar que após a adição de uma amostra contendo antigénio, este foi reconhecido pelos anticorpos específicos e ligaram-se. Enquanto que na segunda reação (negativa), foi adicionada uma amostra que não continha o antigénio específico do anticorpo, logo não houve ligação.

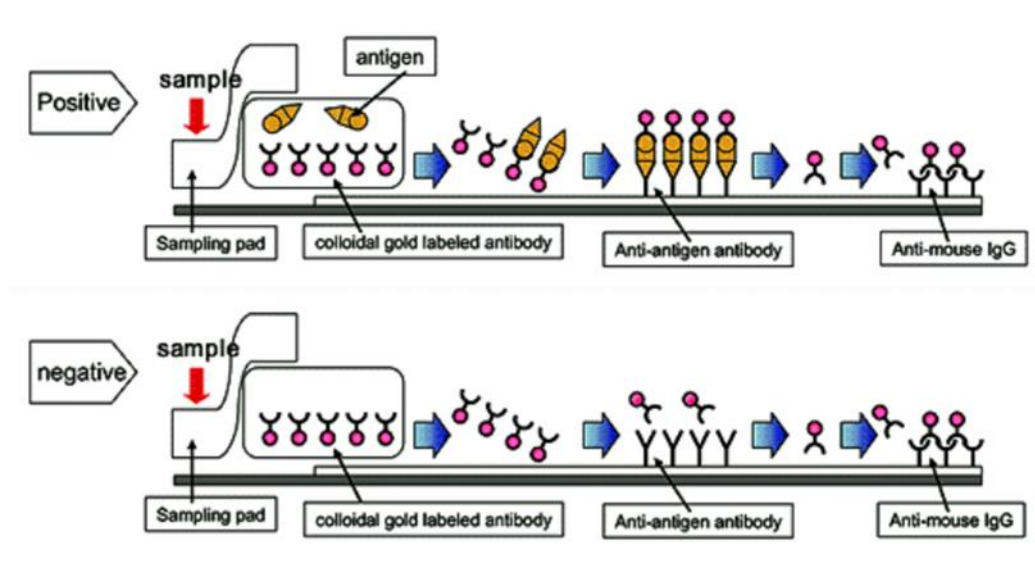


Figura 1.7.3. Ilustração do mecanismo de funcionamento dos testes imunocromatográficos (51).

São estes testes serológicos, biossensores relativamente baratos, de simples e rápida execução, que mais frequentemente são usados em processos de rastreio alargados ou em estudos de seroconversão ou seroprevalência, como aqui se reporta (26,27).

Até à data, a evidência disponível não permitiu inferir com certeza sobre a natureza e duração dos anticorpos produzidos como resposta à infeção por SARS-CoV-2, em indivíduos sintomáticos ou assintomáticos, e se esses anticorpos conferem imunidade de longa duração, mas permite especular com alguma evidência nos estudos já existentes. Neste momento, sabe-se que a IgM surge na segunda fase e permanece até à terceira fase, enquanto que, a IgG aparece na terceira fase e continua após a infeção ter passado (27). Há estudos que indicam que as imunoglobulinas começam a ser produzidas uma a duas semanas após o início dos sintomas (52,53). De facto, há vários estudos que mostram que a IgM foi detetada mais, precocemente, 1 a 7 dias após o início dos sintomas em 85% dos indivíduos. A IgM decresce rapidamente em 20 dias após o início dos sintomas, até se tornar impercetível por volta dos 60 dias após o início dos sintomas. Já a IgG começa a ser detetável 7 a 14 dias após o início dos sintomas e pode-se manter estável até 3 a 5 meses após o início dos sintomas, depois decresce lentamente até aos 2 anos ou mais (53–56).

Por isso, o resultado dos testes de deteção de anticorpos quando interpretados isoladamente não exclui a possibilidade da pessoa estar infetada (26,57).

1.8. O papel do farmacêutico nos estudos de seroprevalência

Os farmacêuticos, assim como outros profissionais de saúde, são componentes dos sistemas de saúde, sendo, por isso, essenciais quando este é mais necessário para dar respostas urgentes a problemas de saúde generalizados. Em situação de pandemia, como se tem observado, todos os profissionais que operam nas áreas clínicas, nas áreas do diagnóstico e do medicamento são fundamentais (58).

A profissão farmacêutica, para além do seu envolvimento ao nível hospitalar e comunitário numa perspetiva de dispensa de medicamentos e acompanhamento do seu uso no contexto da pandemia, foi particularmente envolvida pela realização dos testes RT-PCR em laboratórios de análises clínicas (estima-se que 35% dos testes de PCR efetuados no país tenham sido da responsabilidade de farmacêuticos) e dos testes rápidos de antigénio ao nível das farmácias comunitárias (59,60).

Para além dos testes de diagnóstico em laboratório ou em farmácia comunitária, os profissionais farmacêuticos foram ainda envolvidos nos trabalhos de avaliação técnica dos dispositivos médicos de diagnóstico da COVID-19 e nos estudos epidemiológicos de seroprevalência que permitiram adquirir a perceção dos níveis de infeção no país (59).

Particularmente no que se refere aos testes rápidos serológicos, a potencial existência de falsos negativos, por insuficiência de amostra ou falsos positivos, por reação imune cruzada requerem competências técnicas adequadas para a sua realização e interpretação. Neste contexto é fundamental o conhecimento técnico-científico do farmacêutico (60).

Os testes rápidos serológicos deverão, por isso, ser efetuados pelo farmacêutico em especial no contexto da farmácia comunitária. Este deve ser treinado para (61,62):

- ✚ Entender e demonstrar o uso adequado;
- ✚ Saber a teoria e a metodologia dos testes imunocromatográficos;
- ✚ Conhecer os aspetos pré-analíticos essenciais para a análise, contendo a indicação e as limitações do teste e o processo de colheita da amostra;
- ✚ Entender e solucionar as limitações técnicas do sistema analítico;

- ✚ Conhecer e efetuar a adequada conservação das matérias-primas;
- ✚ Cumprir os procedimentos definidos de acordo com os resultados apresentados;
- ✚ Praticar a biossegurança e o controlo da infeção e encaminhar corretamente os resíduos, e;
- ✚ Registrar/notificar corretamente os dados e os resultados de modo a garantir a sua rastreabilidade.

Existem diversos estudos de seroprevalência levados a cabo por farmacêuticos. Nomeadamente, uma análise da seroprevalência de uma amostra de pessoas que trabalhava em farmácia ou parafarmácia em Itália (Turin) (63). Também decorreram na Suíça e em Itália estudos de seroprevalência de anticorpos anti-SARS-CoV-2 na população (64,65).

1.9. Justificação do estudo

De acordo com a primeira fase do Inquérito Serológico Nacional COVID-19 (ISN COVID-19), a seroprevalência global era de 2,9% de infeção pelo vírus na população residente em Portugal, não tendo sido descobertas diferenças consideráveis entre regiões e grupos etários. É importante salientar que a 15 de março de 2020, havia 245 casos confirmados de COVID-19. Esta seroprevalência foi superior nas pessoas que já tinham tido um contacto prévio com um caso suspeito ou confirmado de COVID-19 e nos que apresentaram sintomatologia compatível com a doença. Aproximadamente, 44% dos participantes com anticorpos específicos contra o vírus, não referiram qualquer sintoma de COVID-19 anteriormente (66).

Os dados da serologia mudaram radicalmente quando se executou a segunda fase do Inquérito Serológico Nacional, depois da designada terceira vaga da pandemia, em janeiro/fevereiro de 2021 e após ter-se iniciado a vacinação em massa.

Na segunda fase do Inquérito Serológico Nacional COVID-19, a prevalência de anticorpos específicos contra a infeção foi de 15,5% na população portuguesa com idades incluídas entre 1 e 80 anos, sendo que, 13,5% foi conferida por infeção. É de elevada importância referir que a 15 de fevereiro de 2021 já tinham sido confirmados 787 059 infetados por SARS-CoV-2. No grupo de vacinados a percentagem de pessoas com anticorpos específicos contra SARS-CoV-2 foi de 74,9%, valor que cresceu para 98,5% quando consideradas apenas as pessoas vacinadas com duas doses há pelo menos 7 dias. Estas estimativas devem ser interpretadas com precaução, visto que o reduzido número de indivíduos vacinados no Inquérito Serológico Nacional COVID-19, mas comprovam o efeito esperado de aumento da imunidade de grupo contra SARS-CoV-2 à medida que o programa de vacinação for sendo implementado (67).

Os dados epidemiológicos da vila de Mora mostram-nos que os primeiros casos confirmados de COVID-19 surgiram no início do mês de agosto de 2020 e, que a partir daí ocorreu uma explosão de casos, tendo o surto sido contido em finais desse mês, prolongando-se os casos positivos até outubro. Na tabela e no gráfico 1.9. podem observar-se esses dados de uma forma mais detalhada (68).

Tabela 1.9. Número de casos ativos de COVID-19 no concelho de Mora por datas (68).

<i>Data</i>	Casos ativos de COVID-19
03/08/2020	3
10/08/2020	5
17/08/2020	36
24/08/2020	57
31/08/2020	58

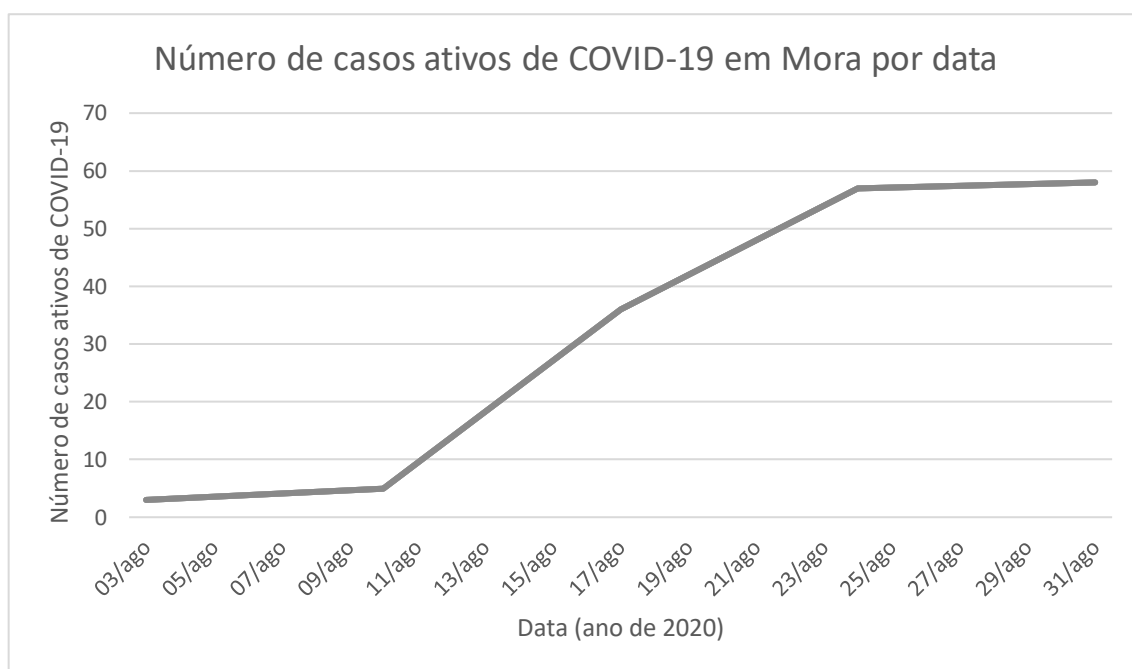


Gráfico 1.9. Número de casos ativos de COVID-19 no concelho de Mora por datas (68).

Tal como os estudos serológicos nacionais revelaram, houve mais infetados do que os diagnosticados verdadeiramente; importa, por isso, em Mora perceber a real dimensão da imunidade gerada pelo surto.

Neste contexto, importa perceber qual o nível de imunidade que o surto ocorrido na vila de Mora terá deixado na população.

2. Objetivo

2.1. Objetivo geral

O objetivo geral deste estudo foi avaliar o nível de exposição ao vírus SARS-CoV-2 da população da vila de Mora, na sequência do aparecimento de um surto importante em agosto de 2020.

2.2. Objetivos específicos

Os objetivos específicos deste estudo foram:

- ✚ Perceber se os indivíduos que estiveram infetados e testaram positivo desenvolveram anticorpos contra o vírus, criando assim imunidade para a reinfeção;
- ✚ Identificar situações de pessoas seropositivas, que possam não ter sido testadas ou que tenham testado negativo;
- ✚ Pesquisar a eventual presença de infetados assintomáticos ou de pessoas não infetadas, mas que possam ter contactado o agente infeccioso anteriormente, e;
- ✚ Correlacionar os dados do concelho em estudo com os dados do país (inquérito serológico nacional que indicou uma seroprevalência de 2,9% de infeção por SARS-CoV-2 na população portuguesa).

3. Metodologia

3.1. Localização espacial e temporal

O estudo decorreu na vila de Mora, pertencente ao concelho de Mora e ao distrito de Évora, na região do Alentejo e sub-região do Alentejo central. Este concelho ocupa uma área de 443,5 km² e reúne 4 freguesias: Brotas, Cabeção, Mora e Pavia. De acordo com os censos (dados preliminares), apresentava em 2021, 4128 habitantes (69). Encontra-se delimitado a norte por Avis e Ponte de Sôr (distrito de Portalegre), a sudeste por Arraiolos e a nordeste por Sousel (distrito de Portalegre) e por fim, a oeste por Coruche (distrito de Santarém). O clima é mediterrânico, marcado por uma acentuada estação seca no verão (70).

O estudo iniciou-se em setembro após o pico do surto, que começou em agosto, e prolongou-se até novembro, do ano de 2020.

3.2. Seleção da amostra

Toda a população residente em Mora foi convidada a participar no estudo, sem critérios de integração específicos, além de habitar ou ter estado no concelho de Mora durante o período do surto, em agosto. O convite foi efetuado no dia-a-dia da farmácia, oralmente e através de publicidade vertical e, pelas redes sociais. Os testes foram realizados semanalmente ao sábado à tarde por farmacêutico devidamente habilitado.

3.3. Descrição da farmácia

O estudo decorreu na Farmácia Central de Mora. Esta localiza-se fora do centro da vila de Mora, mas encontra-se bem situada perto de uma superfície comercial. Nesta farmácia, colaboram cinco farmacêuticos, um técnico de farmácia e um técnico auxiliar de farmácia (TAF).

A farmácia é composta pela sala de atendimento, uma zona de receção de encomendas, o escritório, dois gabinetes e o wc. O estudo decorreu num dos gabinetes devidamente equipado.

3.4. Instrumento para recolha de dados

O instrumento de recolha de dados (*Anexo 1*) foi desenvolvido especificamente para o efeito. Inclui dados pessoais, tais como, o nome, a nacionalidade, a data de nascimento, a atividade profissional, o contacto, e se habita sozinho ou não. Também foram inquiridas questões relativas à residência e a viagens nos 30 a 60 dias que antecederam o momento da realização do teste. Para além disso, foram interrogadas, relativamente, a contactos com suspeitas ou casos confirmados (sintomáticos ou não) de COVID-19 e a testes efetuados anteriormente, e respetivos resultados. Por fim, foi criado um espaço onde se registou o resultado do teste efetuado. Também foi criado um consentimento informado específico para o estudo, que se encontra no *Anexo 2*. Face ao resultado obtido no teste efetuado, reativo ou não, foi realizado um aconselhamento direcionado à pessoa e foi entregue um cartão com o resultado desse mesmo teste (*Anexo 3*).

3.5. Materiais

O gabinete onde decorreu o estudo era composto por uma secretária, duas cadeiras (uma para o farmacêutico e outra para o utente) e o material utilizado para a realização do questionário e do teste rápido. Adicionalmente, para a realização deste estudo contou-se com os seguintes materiais:

- ✚ Instrumento de recolha de dados e caneta;
- ✚ Compressas ou algodão;
- ✚ Álcool;
- ✚ Lancetas;
- ✚ Pipetas conta gotas;
- ✚ Pensos rápidos, e;
- ✚ Testes serológicos.

Relativamente aos testes foram utilizados testes de várias marcas conforme a disponibilidade do mercado, uma vez que, aquando da realização do estudo existia uma escassez de testes. Todos os testes utilizados cumpriram as especificações do normativo da DGS nº 019/2020, estavam registados no INFARMED, I.P., de acordo com a legis-

lação aplicável, foram realizados por profissional de saúde legalmente habilitado (farmacêutico) de acordo com o Despacho nº 10009/2019, de 5 de novembro e seguindo a Orientação 015/2020 da DGS e foi efetuado em estabelecimento prestador de cuidados de saúde (unidade registada na Entidade Reguladora de Saúde – ERS), que assegurou as condições de higiene e biossegurança adequadas (57,71–73).

Um dos testes usados foi o *COVID-19 IgG/IgM Rapid Test Kit* – Abbexa Ltd. Cambridge Science Park, CB4 0GJ, UK, cujo folheto informativo se encontra no *Anexo 4*.

Este kit não deteta anticorpos neutralizantes produzidos pela administração da vacina, porque as vacinas normalmente utilizam as proteínas S enquanto que este kit usa a proteína N para a deteção. Baseado numa amostra de 615 pessoas (403 positivas e 212 negativas), o teste apresenta 95,12% de precisão. Para melhorar os resultados, é aconselhável o teste ser realizado entre 7 a 14 dias após a primeira exposição.

3.6. Procedimento

Após o convite para participação no estudo, em caso de aceitação, foi efetuada a marcação e entregue um cartão com a data e hora do teste serológico. Em caso de recusa, tal atitude não foi registada. No dia da realização do teste, o município foi convidado a assinar o consentimento informado (*Anexo 2*) e a responder a um questionário inicial (*Anexo 1*).

O farmacêutico começou por desinfetar a zona da punção, seguiu-se a punção propriamente dita e a recolha da amostra. A amostra foi aplicada no biosensor e o resultado foi lido ao fim de 10 minutos, no caso de ter sido positivo foi de imediato registado, no caso de ter sido negativo esperou-se mais 20 minutos e efetuou-se uma nova leitura do resultado após esse tempo. Também é importante referir que o teste é considerado positivo quando surge uma linha na zona T e C, é negativo quando aparece apenas uma linha na zona C e inconclusivo quando não se manifesta nenhuma linha ou apenas se manifesta na zona T e não na zona C. Foi prestado o devido aconselhamento face à recolha de dados inicial.

O fluxograma do procedimento detalhado encontra-se descrito no *Anexo 5*.

Todas as condições de segurança no âmbito da pandemia COVID-19 foram cumpridas, assim como as associadas à realização do teste serológico.

3.7. Congruência do resultado dos testes

Na ausência de congruência do resultado do teste com a recolha de dados efetuada, o teste foi repetido por forma a assegurar que não foi aplicada uma quantidade de sangue insuficiente. A repetição foi efetuada, preferencialmente com um biossensor diferente para minimizar potenciais reações imunes cruzadas.

O teste é também repetido quando na presença de resultado inválido, por falta de linha de controlo ou por irregularidade evidente na migração da amostra.

3.8. Tratamento de dados

O sistema utilizado para tratamento dos dados foi o IBM® SPSS® Statistics – “*Statistical Package for the Social Sciences*” na versão 26.

Quanto às profissões dos participantes, estas foram classificadas Segundo a Classificação Portuguesa das Profissões: 2010 (Ano de edição: 2011) do Instituto Nacional de Estatística (INE). Esta classificação compreende diversos grupos, um deles é o Grande Grupo que se inicia no código 0 e termina no 9, portanto, inclui 10 Grandes Grupos (74).

4. Resultados

4.1. Dados sociodemográficos

Participaram no estudo 272 pessoas, 151 (55,5%) do género feminino e 121 (44,5%) do género masculino.

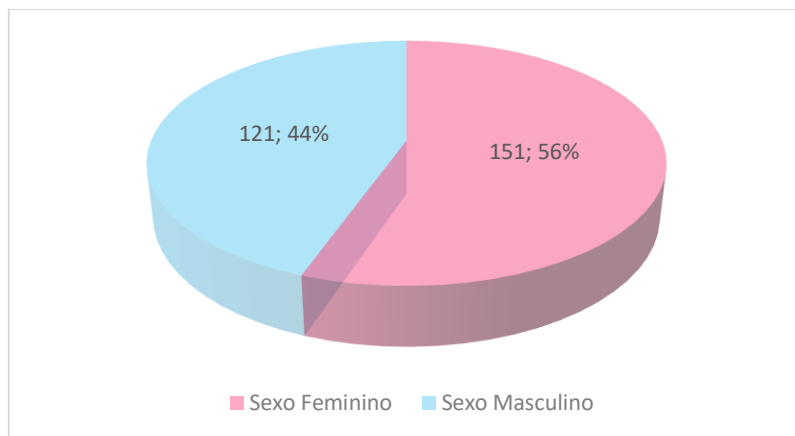


Gráfico 4.1. Género da amostra do estudo

A idade média foi de $46,6 \pm 18,7$ anos, tendo o participante mais novo 7 anos e o mais velho 88 anos. O grupo etário mais prevalente foi entre os 35 e os 49 anos, como se regista no Gráfico 4.1.1.

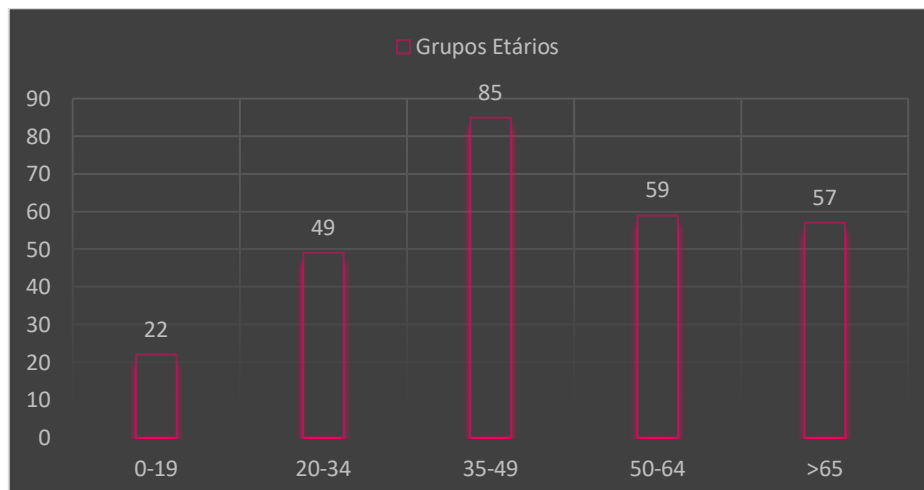


Gráfico 4.1.1. Grupos etários da amostra

Em relação à nacionalidade dos participantes, 268 (98,5%) referiu nacionalidade portuguesa e 3 (1,1%) responderam outras. Da minoria que referiu “outras”, um dos utentes mencionou luxemburguesa e os outros dois, romena.

Quanto às profissões, só foi possível apurar os dados de 174 dos participantes. As profissões dos participantes registam-se com maior detalhe na Tabela 4.1.

Tabela 4.1. Profissões dos participantes da amostra

Grande Grupo	Designação	Participantes	
		n	%
0	Profissões das Forças Armadas	1	0,6
1	Representantes do poder legislativo e de órgãos executivos, dirigentes, diretores e gestores executivos	10	5,7
2	Especialistas das atividades intelectuais e científicas	24	13,8
3	Técnicos e profissionais de nível intermédio	22	12,6
4	Pessoal administrativo	2	6,9
5	Trabalhadores dos serviços pessoais, de proteção e segurança e vendedores	7	9,8
6	Agricultores e trabalhadores qualificados da agricultura, da pesca e da floresta	7	4,0
7	Trabalhadores qualificados da indústria, construção e artífices	16	9,2
8	Operadores de instalações e máquinas e trabalhadores da montagem	37	21,3
9	Trabalhadores não qualificados	28	16,1

Relativamente à situação profissional, a maior parte dos participantes declarou-se no ativo, com 54 (20,2%) utentes na situação de reformados e 31 (11,4%) utentes na de estudantes. O Gráfico 4.1.2. esquematiza estes dados.

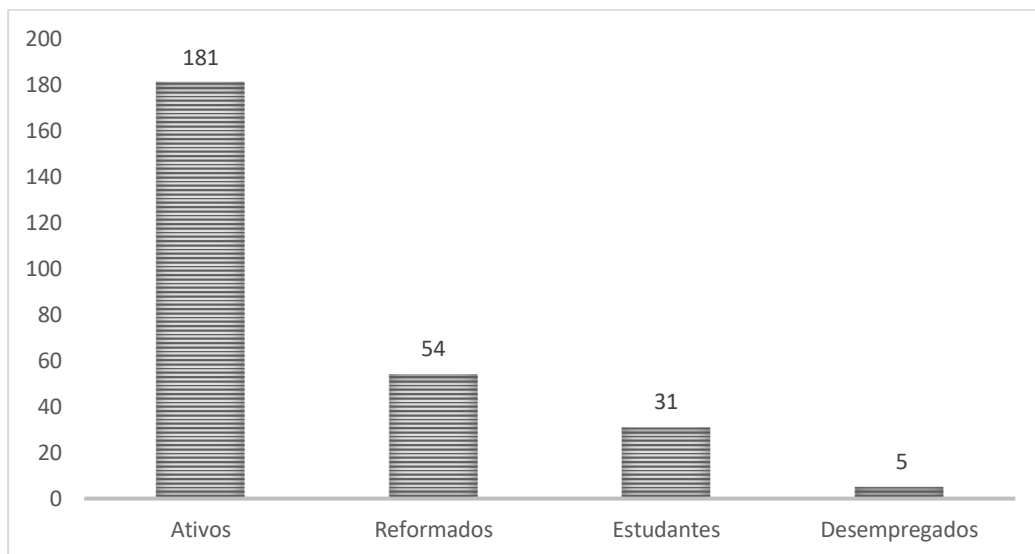


Gráfico 4.1.2. Situação profissional dos participantes da amostra

Também se regista que quase 90% dos participantes declarou não habitar sozinho, como se exhibe na figura seguinte (Gráfico 4.1.3.).

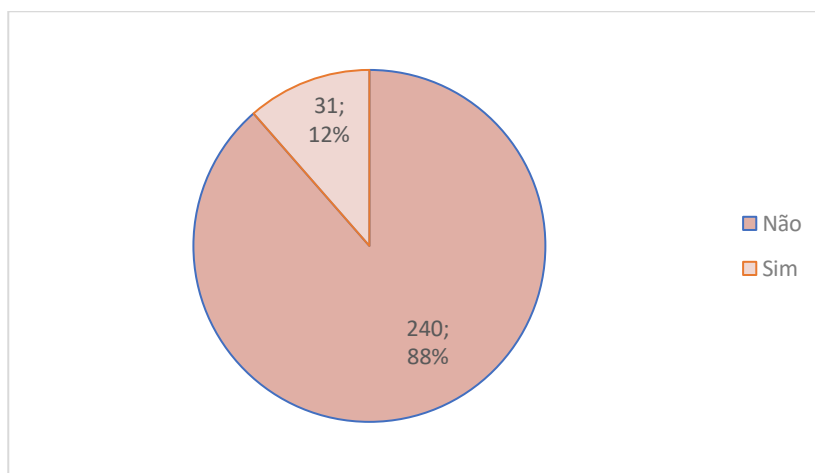


Gráfico 4.1.3. Resposta à questão "Habita sozinho(a)?"

4.2. Residência / Viagem nos últimos 30 / 60 dias

Todos os participantes residem ou estiveram em Mora durante o período do surto. As viagens realizadas nos últimos 30-60 dias foram, na grande maioria das situações à capital do distrito (Évora) ou à capital do país (Lisboa). A indicação dos locais e da frequência das pessoas que declaram deslocações aos mesmos exprime-se no Gráfico 4.2.

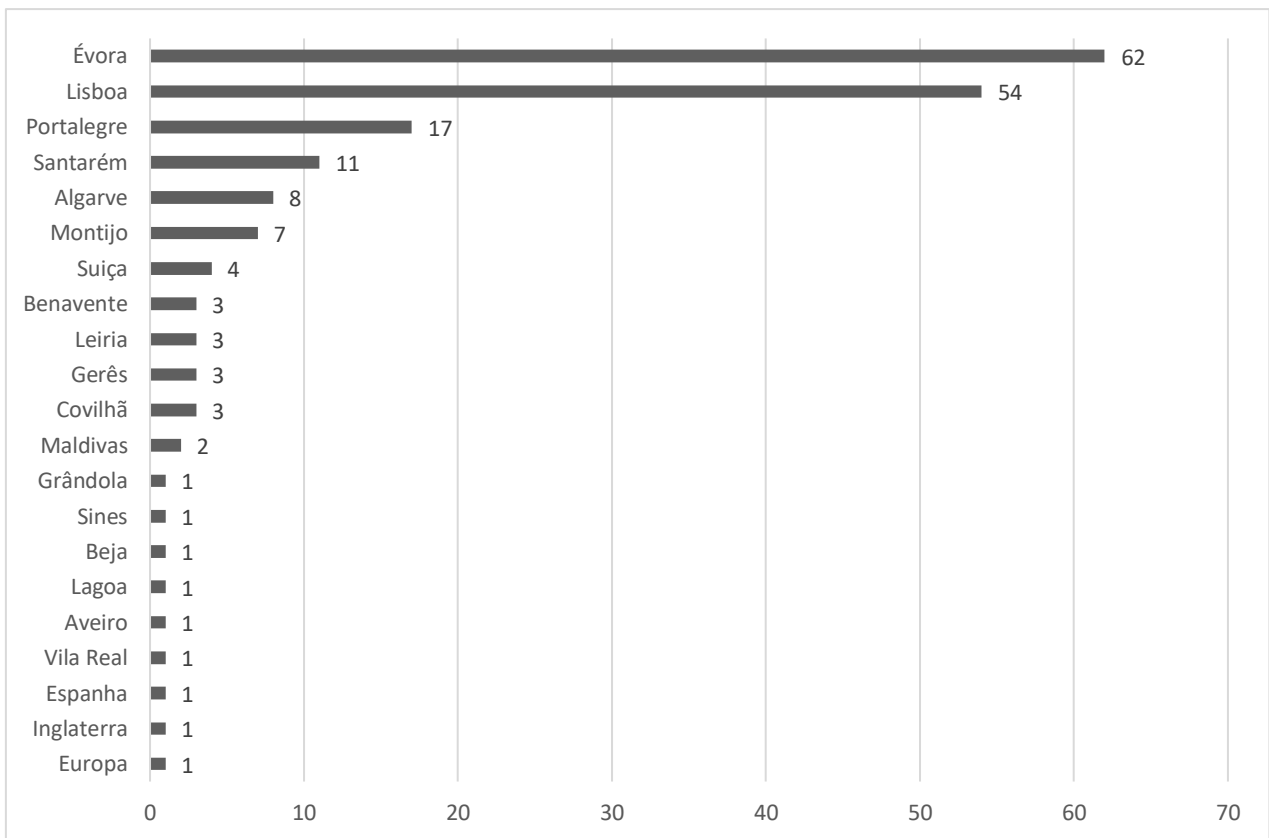


Gráfico 4.2. Resposta à pergunta “Residência / Viagens nos últimos 30 / 60 dias”

4.3. Sintomatologia nos últimos 30 / 60 dias

Foram questionados sintomas potencialmente relacionados com COVID-19 nos últimos 30 / 60 dias. Foi questionada a presença de febre (temperatura $\geq 38^{\circ}\text{C}$), quadro respiratório agudo com tosse, fadiga, expetoração, dispneia e dores musculares e/ou articulares.

Existem 2 casos omissos relativamente a esta questão. A maioria, 190 (70,4%) participantes, respondeu que não teve qualquer um destes sintomas nos últimos 30 / 60 dias. Em contrapartida, 80 (29,6%) responderam que sim. Estes dados podem ser observados no gráfico 4.3.

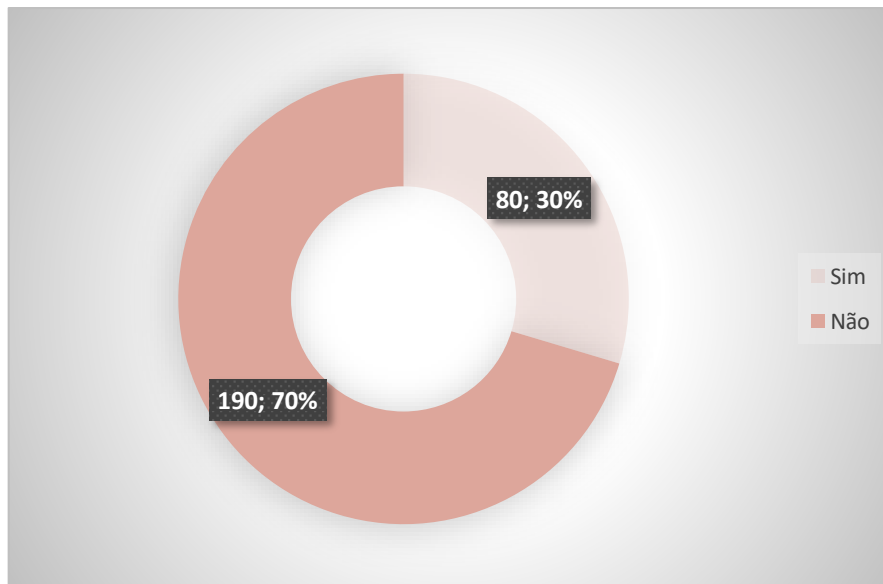


Gráfico 4.3. Sintomatologia nos últimos 30 / 60 dias

Dentro do grupo de pessoas que respondeu sim na questão anterior, foram analisados os sintomas em específico e que se incluem na Tabela 4.3.

Tabela 4.3. Especificação dos sintomas apresentados nos últimos 30 / 60 dias

<i>Sintomas</i>	Quantidade (n)	Percentagem (%)
<i>Febre</i>	13	16,3
<i>Quadro respiratório agudo com tosse</i>	44	55
<i>Fadiga</i>	24	30
<i>Expetoração</i>	19	23,8
<i>Dispneia</i>	13	16,3
<i>Dores musculares e/ou articulares</i>	25	31,3

Legenda: Sintomatologia apresentada em 80 participantes.

Os participantes que apresentaram quadro respiratório agudo com tosse atribuíram o sintoma a situações de alergia, tabaco ou asma. Relativamente à fadiga, disseram ser devido ao trabalho, à idade, à alergia ou à asma. Quanto à expetoração, referiram como causas alergia, tabaco, asma e rino-sinusite. Quanto à dispneia, relataram também problemas do foro alérgico, asma, bronquite e sinusite. Por fim, as principais causas das dores musculares e/ou articulares são identificadas como problemas do foro músculo-esquelético, do foro respiratório, trabalho e idade.

4.4. Contactos nos últimos 30 / 60 dias

Nesta pergunta, foi solicitado que indicassem se nos últimos 30 / 60 dias teriam estado em contacto com algum caso suspeito ou confirmado de COVID-19 (teste positivo) e se este apresentava ou não sintomatologia.

Reportaram contactos de proximidade com casos suspeitos, 22 (8,1%) pessoas, como se esquematiza no Gráfico 4.4.

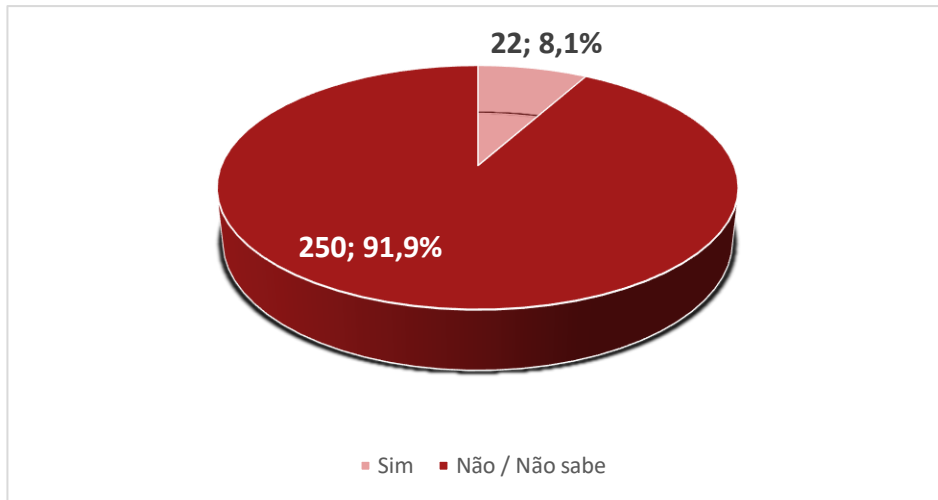


Gráfico 4.4. Participantes que contactaram com suspeitas de infetados por COVID-19

Reportaram contactos com pessoas infetadas com COVID-19, 51 (18,8%) participantes, sendo que 45 (16,5%) pessoas contactaram pessoas infetadas e sintomáticas (Gráfico 4.4.1.).

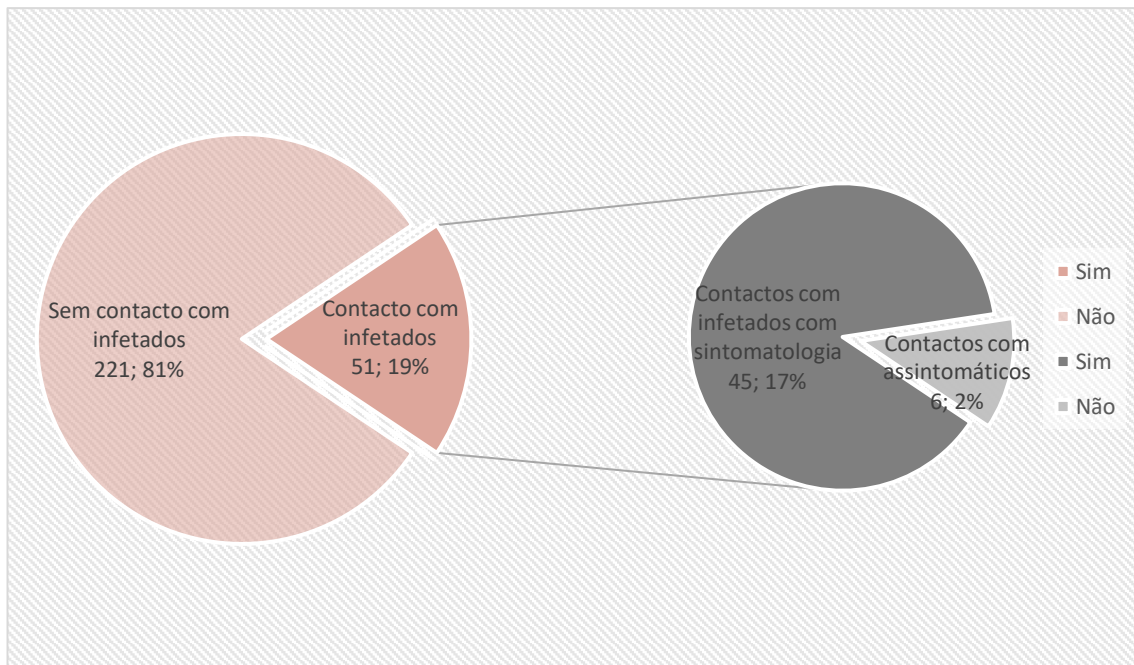


Gráfico 4.4.1. Contacto com COVID positivo (teste positivo) e com ou sem sintomas

4.5. História anterior de testes COVID-19

Nesta secção, foram questionados se já tinham realizado algum tipo de teste, nomeadamente de RT-PCR RNA ou imunológico. Referente aos testes de RT-PCR RNA, registamos 5 casos omissos, onde não foram registadas as respostas dos participantes. Aproximadamente, metade (128 – 47,9%) dos participantes referiu já ter efetuado um teste molecular, sendo que a maioria 122 (95,3%) indicou resultado negativo (Gráfico 4.5. e 4.5.1.).

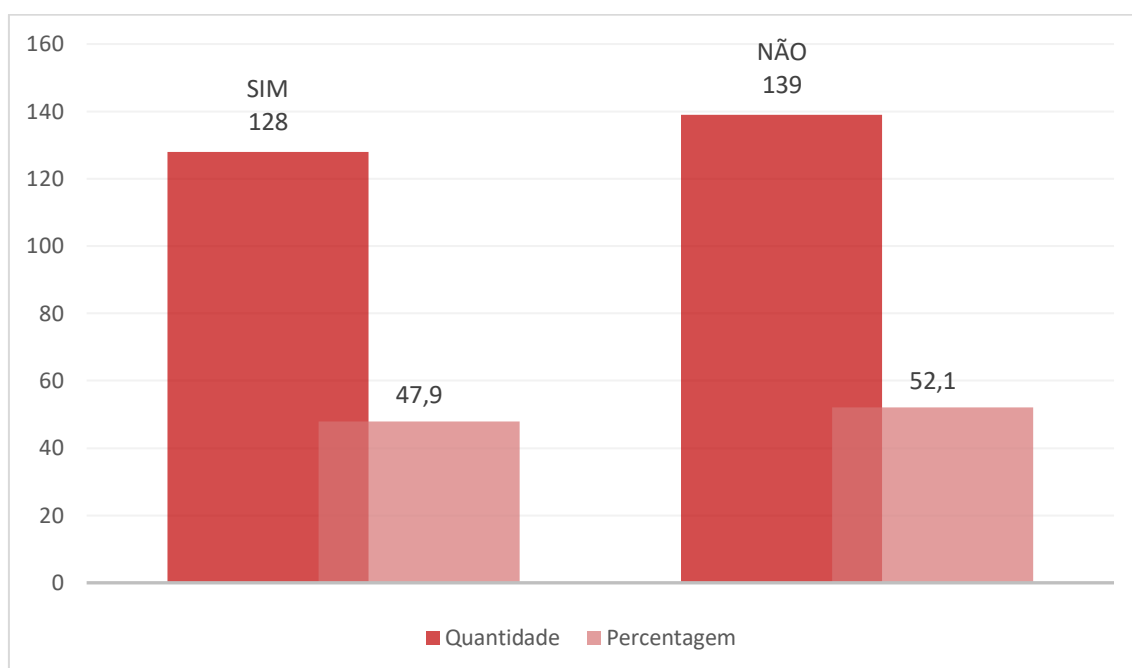


Gráfico 4.5. Quantidade (em número) e percentagem (%) de participantes que efetuaram teste RT-PCR RNA (zaragatoa)

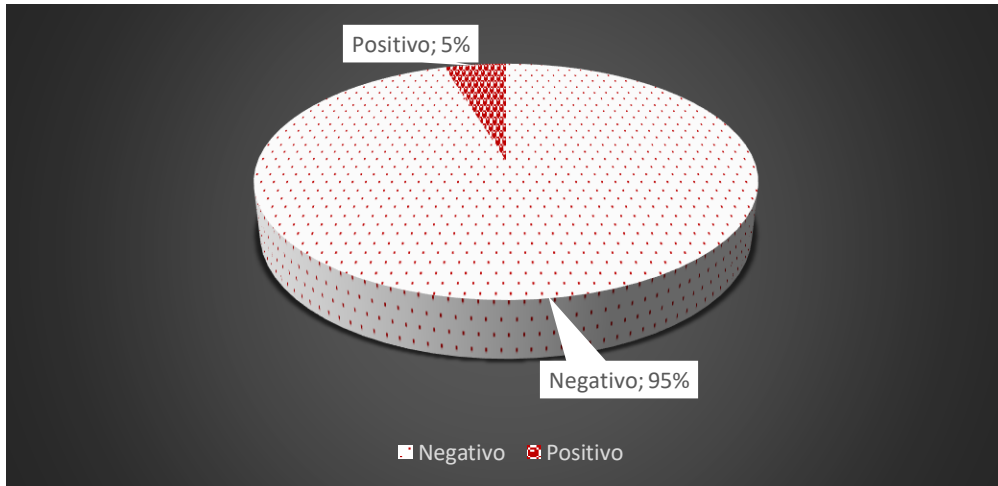


Gráfico 4.5.1. Resultado dos testes de RT-PCR RNA

Quanto ao teste imunológico, apenas uma minoria referiu já o ter realizado (3 participantes – 1,1%), destes somente uma pessoa relatou ter obtido resultado positivo (Gráfico 4.5.2. e 4.5.3.).

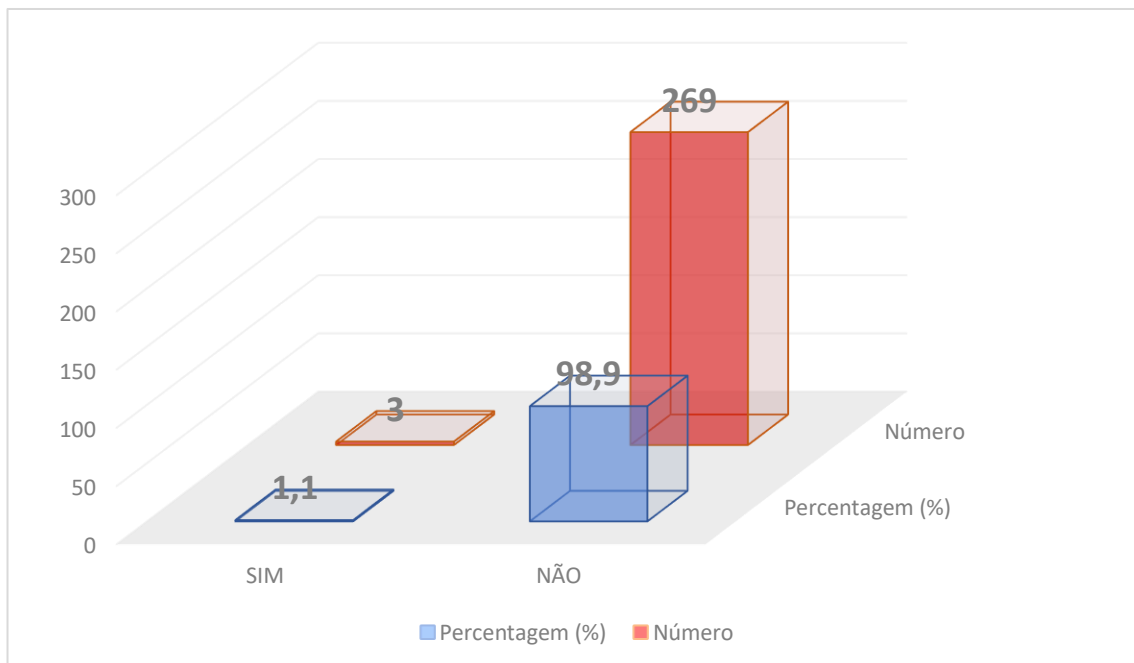


Gráfico 4.5.2. Número e percentagem de participantes que já tinha realizado teste imunológico antes deste estudo

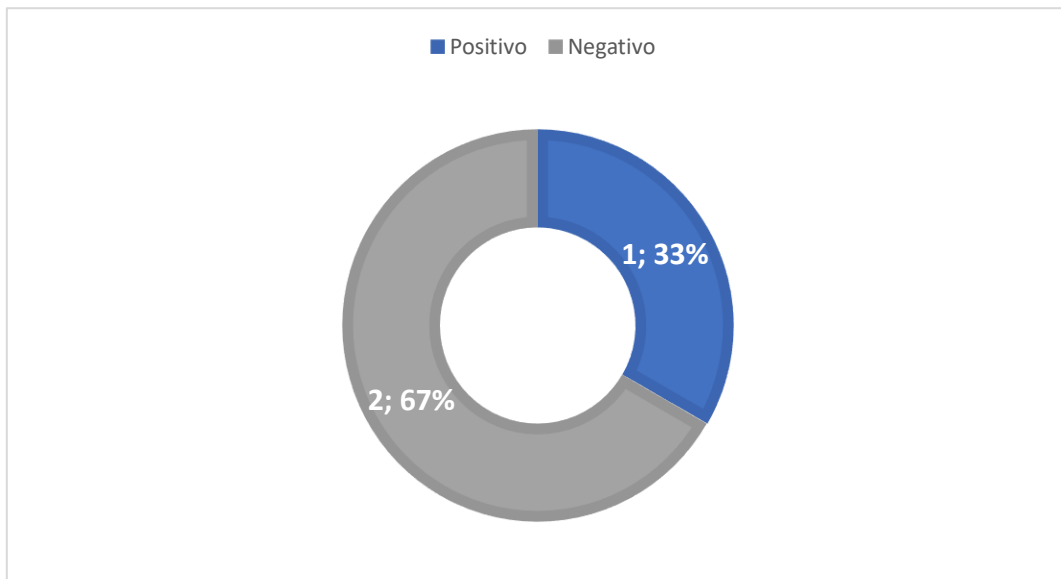


Gráfico 4.5.3. Resultado dos testes imunológicos

4.6. Teste rápido IgG/IgM

Nesta secção do questionário foi realizado um teste imunológico e foram anotados os resultados. Obteve-se um caso omissos, onde por lapso não foram apontados os dados do teste, e portanto, apresentam-se 271 testes. A totalidade dos testes efetuados foram considerados válidos. Foram detetados anticorpos contra o SARS-CoV-2 em 15 pessoas. A imunoglobulina de tipo IgM, foi detetada em 3 (1,1%) pessoas e, a IgG em 12 (4,4%) pessoas. Estes dados resumem-se no Gráfico 4.6. e na Tabela 4.6.

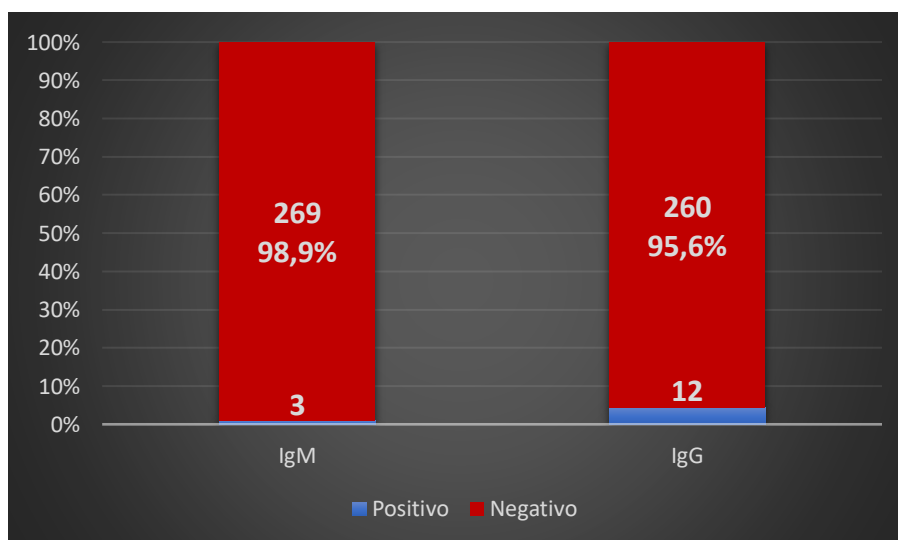


Gráfico 4.6. Resultado dos testes (rápidos) serológicos

Tabela 4.6. Dados dos 15 participantes que positivaram para anticorpos contra o SARS-CoV-2

Legenda: + - Positivo, - - Negativo, **F** – Feminino, **M** – Masculino e **NR** – Não Realizou

Participantes	IgM	IgG	Género	Idade (anos)	Sintomas	RT-PCR	Teste Serológico
1	+	-	M	58	Sim	-	NR
2	+	-	F	64	Sim	NR	NR
3	+	-	F	39	Sim	-	NR
4	-	+	F	34	Sim	NR	NR
5	-	+	F	70	Sim	NR	NR
6	-	+	M	71	Não	+	-
7	-	+	F	48	Não	NR	NR
8	-	+	F	32	Não	+	NR
9	-	+	F	65	Não	-	NR
10	-	+	M	60	Não	NR	NR
11	-	+	F	29	Sim	+	NR
12	-	+	F	82	Não	NR	NR
13	-	+	M	81	Não	NR	NR
14	-	+	M	76	Sim	NR	NR
15	-	+	M	69	Não	+	NR

5. Discussão

No estudo foram incluídas todas as pessoas, que de forma voluntária responderam ao anúncio da farmácia. Não foram adotadas regras de amostragem que possam justificar a representatividade da amostra ou dos resultados obtidos.

Relativamente ao género dos participantes, este foi bastante equilibrado 55,5% (feminino) versus 44,5% (masculino). De acordo com os censos de 2021, disponibilizados pela PORDATA, a população do género feminino foi de 50,5%, praticamente equitativa ao género masculino com 49,5% (75). Logo, pode-se inferir que a amostra do estudo foi bastante representativa da realidade da população de Mora. A ligeira diferença observada no estudo por parte do género feminino, pode ser explicada devido ao facto de, geralmente, o sexo feminino se deslocar mais à farmácia do que o masculino.

Segundo os resultados obtidos, uma grande parte dos participantes, ou seja, 85 (31,3%) pessoas pertence à faixa etária dos 35 aos 49 anos, que não coincide com a distribuição da população na localidade. Contudo, segundo os dados mais recentes da PORDATA de 2019 indicam uma percentagem da ordem dos 10,4% para jovens abaixo dos 15 anos, 58,2% para a população ativa até aos 64 anos e 31,5% para idosos (76). A faixa etária entre os 35 e os 49 anos está sobre-representada na amostra analisada neste estudo, provavelmente devido ao facto de ser nesta faixa etária que existirão as maiores preocupações com a COVID-19 e por serem as pessoas mais ativas que mais frequentemente se deslocam à farmácia. Potencialmente, estiveram mais expostas a riscos de infeção (comportamentos de risco), visto que as pessoas mais idosas estariam com maior receio da pandemia e resguardadas em casa.

A maioria das pessoas disse ser de nacionalidade portuguesa, o que é expectável tendo em conta os objetivos do estudo e os critérios de inclusão. Uma vez que o estudo pretende analisar esta população em específico, não seria muito adequado recolher dados a pessoas de outras nacionalidades.

A dispersão das respostas dos participantes quanto à profissão e quanto à escolaridade não permite inferências relevantes.

A maior parte dos respondentes assumiu não viver sozinho, mas coabitar com familiar. Este facto é espectável para a comunidade de uma pequena povoação rural, em que usualmente as famílias se mantêm juntas até ao casamento dos filhos. Indica que a maioria esteve em contacto com outras pessoas, ainda que sejam do mesmo agregado familiar. Pessoas essas que também podem ter estado em contacto com outras pessoas e que podem se ter deslocado por motivos profissionais ou outros.

No que diz respeito à residência a grande maioria das pessoas inquiridas reside em Mora, facto este esperado também pelo facto de após o surto haver um grande receio de sair e a comunicação social ter reportado abundantemente o surto de Mora que fez com que potenciais visitantes evitassem a localidade. Nas viagens dos participantes regista-se como principais destinos as cidades de Évora e Lisboa, principalmente por razões de ordem profissional. Houve efetivamente 3 pessoas que testaram positivo no teste RT-PCR e que viajaram antes ou durante o surto. Uma delas esteve em Lisboa, a segunda em Évora e a terceira diz ter estado em Évora e no Montijo. A segunda e a terceira pessoas também testaram positivo para a IgG. Estas duas pessoas estiveram infetadas com o vírus e ambas viajaram até Évora o que pode significar que possam ter contraído o vírus aquando essa viagem. Além disso, foi detetada a presença de IgM em duas pessoas que viajaram até Évora, uma delas não realizou teste RT-PCR e a outra testou negativo.

Na secção relativa à sintomatologia nos últimos 30 / 60 dias, 80 (29,6%) pessoas referiram sintomas característicos de infeção por SARS-CoV-2. As restantes negaram sintomatologia associada a esta doença, que não significa que não possam ter tido contacto com o vírus ou, mesmo, terem sido portadores assintomáticos e transmissores da infeção. Isto é facilmente comprovado, com o facto de que 3 das pessoas que negaram sintomas testaram positivo no teste RT-PCR e no teste rápido serológico (IgG). Além disso, outra pessoa que negou sintomas testou positivo no teste RT-PCR e mais 5 pessoas que não referiram qualquer sintomatologia positivaram no teste para a IgG.

Dos 3 sintomas mais comuns provocados pela COVID-19, febre, falta de ar e tosse, 13 (16,3%) pessoas indicaram ter tido febre, outras 13 - dispneia e 44 (55%) com um quadro respiratório agudo com tosse. Apesar da maioria ter justificado os sintomas com a presença de outros problemas de saúde, não é de descartar a hipótese de infeção não identificada. O teste de anticorpos específicos pode permitir associar alguns destes

sintomas a eventual infeção assintomática. Um dos casos que referiu ter tido febre, positivou para a IgM e 3 casos que referiram tosse positivaram para a IgG. Destes últimos um deles também testou positivo no teste RT-PCR.

Além disso, as pessoas que tiveram febre não conseguiram justificar este sintoma, por desconhecerem o agente causador. Ainda houve queixas de outras sintomatologias passíveis de suspeita de infeção, como a fadiga, a expetoração e as dores musculares e articulares. Dos participantes que referiram ter tido febre, um deles testou positivo para o teste de anticorpos (IgM) e dos que declararam expetoração, dois deles positivaram também para a IgM e um deles ainda disse ter sentido dores musculares e/ou articulares. Quatro das pessoas que testaram positivo para a IgG, três referiram quadro respiratório agudo com tosse e um relatou fadiga e dores musculares e/ou articulares. Muito provavelmente os sintomas ligeiros que ocorreram e que aqui se reportam com dados de serologia positivos, podendo ser devidos a infeção por SARS-CoV-2, não foram de molde a suspeitar da infeção. Neste contexto não terá sido efetuado o teste molecular de diagnóstico que então se aplicava. Os dados revelam que pessoas que até tiveram sintomas característicos de COVID-19, mas ligeiros e que não valorizaram, de facto, pela positividade no teste de anticorpos, estiveram em contacto com o vírus anteriormente e desenvolveram alguma imunidade.

Além disso, 22 e 51 pessoas estiveram em contacto com suspeitas de infetados e casos confirmados, respetivamente. Destes 51, 45 contactaram com casos confirmados e com sintomatologia específica da doença. Logo, dependendo do tipo de contacto que tiveram (baixo ou alto risco) poderão ter sido infetados aquando dessa aproximação. Um dos participantes que testou positivo para a IgG esteve em contacto com uma suspeita de COVID-19, enquanto que outros dois participantes (que também testaram positivo para a IgG) estiveram em contacto com um caso confirmado com sintomatologia própria da doença, o que leva a querer que possam ter estado infetados, apesar de não terem sido diagnosticados.

Quanto aos testes RT-PCR, 128 pessoas (47,8%) já tinham efetuado, pelo menos, um teste. Destas, 6 pessoas testaram positivo. Entre elas, 4 testaram positivo no teste de anticorpos (IgG), o que nos indica que estiveram efetivamente infetadas com o vírus. No que diz respeito aos testes imunológicos, 3 participantes referiram já ter efetu-

ado, mas apenas um deles testou positivo, o que leva a querer que esta pessoa também terá estado anteriormente infetada.

Nos dados adquiridos pela realização dos testes serológicos rápidos, as imunoglobulinas de tipo IgM foram detetadas em 3 pessoas, o que deixa antever infeção recente, até às 3 a 5 semanas anteriores. Esta informação não pode ser confirmada por teste diagnóstico, uma vez, que um destes participantes não realizou o teste e os outros dois testaram negativo. O que pode ter sido porque o PCR foi realizado muito precocemente ou outra hipótese é a existência de reação cruzada. Podemos estar na presença de resultados potencialmente falsos negativos ou adquiridos fora da janela de positividade do teste.

Os anticorpos do tipo IgG revelaram-se positivos em 12 participantes, presumivelmente infetados num período anterior de 5 a 7 semanas. Destes participantes que testaram positivo para a IgG sete não tinham realizado qualquer teste molecular anteriormente, um tinha realizado o teste com resultado negativo e os quatro remanescentes realizaram o teste molecular com resultado positivo. A inferência de contactos anteriores destas 12 pessoas com o vírus SARS-CoV-2, sendo legítima e credível, não pode ser assumida como definitiva por falta de dados de confirmação por teste de diagnóstico atempado.

Analisando agora cada um dos participantes que testaram positivo nos testes rápidos serológicos, registam-se as seguintes observações:

A respeito do caso do participante 6, de género masculino, de 71 anos de idade, não saiu de Mora e esteve assintomático. Tinha testado positivo no teste RT-PCR há um mês e referiu não ter contactado com nenhum caso suspeito, nem nenhum caso confirmado de COVID-19. Realizou teste imunológico uma semana antes do nosso estudo e obteve resultado negativo. No nosso estudo testou positivo para a IgG. No contexto e face ao teste molecular anterior positivo, o teste serológico anteriormente realizado poderá ter produzido um resultado falso negativo. É também credível que um mês depois do teste molecular positivo o indivíduo pudesse ainda não ter desenvolvido suficientemente as suas IgG para serem detetadas, facto que terá ocorrido com mais uma semana.

No caso 8 – sexo feminino, 32 anos, só esteve em Mora, não apresentou sintomas, contactou com um caso suspeito de infeção, testou positivo há um mês e meio

e foi detetada a presença de IgG, o que confirma a imunidade adquirida 6 semanas após a infeção.

No que se refere ao caso 11, do sexo feminino, de 29 anos, esteve em Mora e Évora, relatou quadro respiratório agudo com tosse, vive com o participante anterior, ao contrário deste, não contactou com nenhum suspeito, nem nenhum caso confirmado de COVID-19. Realizou teste RT-PCR há um mês e meio quando positivou e foi detetada IgG, que confirma o ganho de imunidade e a presença de infeção 6 semanas antes.

Em relação ao caso 15, do género masculino, 69 anos, sem sintomas e esteve em Mora e Évora. Não esteve com nenhum suspeito, nem nenhum caso confirmado de infeção, o teste RT-PCR que confirmou a doença foi há quase 2 meses. Apresentou IgG, que 15 dias depois aquando da repetição do teste serológico, já não foi detetada. A diluição rápida das IgG no soro deste participante poderá não ser sinónimo de falta de imunização, dado que o seu sistema imunitário respondeu atempadamente à infeção. De registar que a ausência da evidência da IgG não é sinónimo da evidência da ausência da mesma. Poderá ser de novo produzida pelos linfócitos B que, por certo, terão ficado de memória depois da resposta imunitária.

Relativamente, ao caso 1, de um senhor de 58 anos, esteve em Mora e Évora, nos últimos 30 a 60 dias apresentou expetoração e dores musculares e/ou articulares, realizou teste RT-PCR há um mês que deu negativo e foi detetada a presença de IgM. Isto, indica que esteve infetado 3 a 5 semanas antes, provavelmente sem ter detetado e deve ter sido transmitido pela esposa que esteve positiva.

Quanto ao caso 2, de uma senhora de 64 anos, esteve em Mora e Évora, apresentou expetoração, não efetuou teste RT-PCR mas deu positivo para a IgM. Pode ter estado infetada sem saber há 3 a 5 semanas.

Com relação ao caso 3, do género feminino de 39 anos, só esteve em Mora, teve febre, fez 2 testes RT-PCR há 1 e 3 meses que deram negativo mas apresentou IgM. Existe a forte possibilidade de ter estado infetada há 3 semanas e não ter tido conhecimento.

Relativamente aos casos mencionados abaixo, que apresentaram teste serológico positivo para a IgG, podemos presumir que estiveram infetados sem saber. Isto porque a

maioria não efetuou testes e, portanto, não confirmou o caso de infeção. Apesar de alguns não terem realizado teste apresentaram sintomatologia ou estiveram em contacto com um caso suspeito ou confirmado de infeção.

- ✚ Caso 4 - género feminino, 34 anos, só esteve em Mora, apresentou quadro respiratório agudo com tosse, não efetuou teste RT-PCR e foi detetada a presença de IgG.
- ✚ Caso 5 - género feminino, 70 anos, só esteve em Mora, referiu ter sentido fadiga e dores musculares e/ou articulares, não efetuou teste RT-PCR mas apresentou IgG.
- ✚ Caso 7 - género feminino, 48 anos, só esteve em Mora, não apresentou sintomas típicos da doença descritos no instrumento de recolha de dados, mas referiu ter sentido dor de garganta que também pode ser suspeito de infeção por SARS-CoV-2. Não esteve em contacto com suspeitas ou casos confirmados da doença e foi detetada IgG.
- ✚ Caso 9 - género feminino, 65 anos, só esteve em Mora, não apresentou sintomatologia, mas esteve em contacto com um caso confirmado com sintomas. Efetuou 2 testes RT-PCR, há 1 mês e há 1 semana, ambos negativos e positivou 2 vezes para a IgG no teste serológico efetuado no estudo.
- ✚ Caso 10 - género masculino, 60 anos, só esteve em Mora, não declarou sintomas nem contacto com caso suspeito ou confirmado de COVID-19 e não realizou teste RT-PCR. Foi detetada IgG em 2 testes.
- ✚ Caso 12 e 13 - género feminino e masculino, 82 e 81 anos, respetivamente, cônjuges, só estiveram em Mora, sem sintomas, não realizaram testes RT-PCR mas positivaram para a IgG.
- ✚ Caso 14 - género masculino, 76 anos, só esteve em Mora, referiu quadro respiratório agudo com tosse, esteve em contacto com um caso confirmado com sintomatologia mas não realizou teste RT-PCR. Positivou à IgG.

Neste caso apresentado a seguir, tal como nos anteriores, pode ter estado infetada sem saber mas há 6 meses quando teve sintomatologia. Também se põe a hipótese de uma reinfeção há 6 a 8 semanas, uma vez que apresentou imunoglobulina G.

Caso de uma senhora de 48 anos, só esteve em Mora, referiu ter tido sintomas há 6 meses, não realizou testes, mas foi detetada a presença de IgG.

De seguida, apresentam-se casos atípicos detetados ao longo do estudo.

Quanto ao caso de 34 anos, sexo masculino, esteve em Mora e Lisboa, queixou-se de fadiga durante 2 dias e dores musculares e/ou articulares. Esteve na proximidade de um infetado com sintomatologia, testou positivo no teste RT-PCR há um mês e meio e não foram detetadas quaisquer imunoglobulinas. Neste caso era de esperar que tivessem sido detetadas imunoglobulinas G. Uma das explicações possíveis é a ocorrência de reação cruzada no teste serológico efetuado no estudo.

No que respeita o caso de um rapaz de 21 anos, assintomático e apenas esteve em Mora. Contactou com um caso confirmado com sintomas, realizou teste RT-PCR que positivou há 2 semanas e para além disso, efetuou um teste imunológico há 4 dias que deu negativo. Não foi detetada a presença de anticorpos, o que não é normal, uma vez, que deveria ter sido detetada IgM. Nesta situação, pode ter ocorrido reação cruzada no teste serológico efetuado no estudo ou então o indivíduo ainda não ter desenvolvido qualquer tipo de imunidade.

No caso de um senhor de 65 anos, esteve em Mora e Évora, não apresentou sintomatologia característica e não esteve em contacto com nenhum caso suspeito ou confirmado. Efetuou teste RT-PCR com resultado negativo, teste imunológico que deu positivo e quanto às imunoglobulinas estudadas pelo teste serológico efetuado no estudo, não foram detetadas. Este caso levanta suspeitas de uma possível infeção assintomática, mas por outro lado pode ser questionada a credibilidade do resultado do teste imunológico realizado anteriormente ao teste serológico do estudo.

6. Conclusão

Em conclusão, a pandemia de COVID-19 tomou dimensões inimagináveis, tanto a nível nacional como a nível mundial. A passagem do vírus foi avassaladora tanto no número de pessoas que faleceram como naquelas onde deixou sequelas, mas também na forma como condicionou a nossa vida no dia a dia.

Os profissionais de saúde, neste caso particular, os farmacêuticos são essenciais no combate à pandemia pela diversidade de ramos onde operam. Destacam-se a produção e distribuição de medicamentos, assim como, a realização de testes de diagnóstico e serológicos.

O estudo realizado após o surto de agosto de 2020 na vila de Mora permitiu concluir que, de todas as pessoas que relataram ter estado infetadas pelo vírus SARS-CoV-2, com teste molecular positivo, apenas uma não revelou a presença de anticorpos específicos no estudo que aqui se reporta. Apesar de não terem sido detetados anticorpos específicos neste caso, não pode excluir-se a imunização. Face ao conjunto dos dados aqui adquiridos parece-nos legítimo concluir que a infeção pelo vírus SARS-CoV-2, induz uma resposta imunitária no indivíduo infetado, que se exprime pela produção de anticorpos específicos de tipo IgM e IgG. Resulta daqui, muito provavelmente uma imunização de longa duração contra a reinfeção nos indivíduos antes infetados pelo vírus.

Adicionalmente e apesar da falta de representatividade da amostra, regista-se que dos 12 indivíduos que apresentaram anticorpos específicos contra o vírus SARS-CoV-2, apenas 5 tinham sido anteriormente avaliados pelo teste de diagnóstico molecular. Na linha do Inquérito Serológico Nacional realizado na mesma altura da realização deste trabalho, em que o nível de seropositivos na comunidade era cerca do dobro dos indivíduos testados positivos pelos testes de diagnóstico, também em Mora depois do surto de agosto terão seroconvertido mais do dobro das pessoas testadas positivas. Estima-se por isso, que os 64 indivíduos testados positivos pelo teste de RT-PCR possam corresponder a mais de 150 pessoas que contactaram o vírus e terão ficado imunizadas. Mesmo neste contexto, a infeção e as imunizações que se estimam não chegariam a 4% da população, muito longe de qualquer imunidade de grupo que pudesse imaginar-se em consequência do surto.

7. Bibliografia

1. Liu Y-C, Kuo R-L, Shih S-R. COVID-19: The first documented coronavirus pandemic in history. 2020.
2. Wang H, Li X, Li T, Zhang S, Wang L, Wu X, et al. The genetic sequence, origin, and diagnosis of SARS-CoV-2. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2020;(1629–1635):39.
3. Wang MY, Zhao R, Gao LJ, Gao XF, Wang DP, Cao JM. SARS-CoV-2: Structure, Biology, and Structure-Based Therapeutics Development. Vol. 10, *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. Frontiers Media S.A.; 2020.
4. Du RH, Liang LR, Yang CQ, Wang W, Cao TZ, Li M, et al. Predictors of mortality for patients with COVID-19 pneumonia caused by SARSCoV- 2: A prospective cohort study. *Eur Respir J*. 2020 May 1;55(5).
5. Jin Y, Yang H, Ji W, Wu W, Chen S, Zhang W, et al. Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of covid-19. Vol. 12, *Viruses*. MDPI AG; 2020.
6. Guan W, Ni Z, Hu Y, Liang W, Ou C, He J, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med*. 2020 Apr 30;382(18):1708–20.
7. Xiong C, Jiang L, Chen Y, Jiang Q. Evolution and variation of 2019-novel coronavirus. *bioRxiv*. 2020.
8. Tang S, Mao Y, Jones RM, Tan Q, Ji JS, Li N, et al. Aerosol transmission of SARS-CoV-2? Evidence, prevention and control. Vol. 144, *Environment International*. Elsevier Ltd; 2020. p. 106039.
9. Yang Y, Xiao Z, Ye K, He X, Sun B, Qin Z, et al. SARS-CoV-2: characteristics and current advances in research. Vol. 17, *Virology Journal*. BioMed Central; 2020.
10. Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*. 2020 Feb 22;395(10224):565–74.
11. Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a

- retrospective cohort study. *Lancet*. 2020 Mar 28;395(10229):1054–62.
12. Fehr AR, Perlman S. Coronaviruses: An overview of their replication and pathogenesis. In: *Coronaviruses: Methods and Protocols*. Springer New York; 2015. p. 1–23.
 13. Gorbalenya AE, Baker SC, Baric RS, de Groot RJ, Drosten C, Gulyaeva AA, et al. Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: The species and its viruses – a statement of the Coronavirus Study Group. *bioRxiv*. bioRxiv; 2020. p. 2020.02.07.937862.
 14. Brian DA, Baric RS. Coronavirus genome structure and replication. Vol. 287, *Current Topics in Microbiology and Immunology*. Springer Verlag; 2005. p. 1–30.
 15. Li W, Moore MJ, Vasllieva N, Sui J, Wong SK, Berne MA, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature*. 2003 Nov 27;426(6965):450–4.
 16. Banerjee AK, Blanco MR, Bruce EA, Honson DD, Chen LM, Chow A, et al. SARS-CoV-2 Disrupts Splicing, Translation, and Protein Trafficking to Suppress Host Defenses. *Cell*. 2020 Nov 25;183(5):1325-1339.e21.
 17. Wan Y, Shang J, Graham R, Baric RS, Li F. Receptor Recognition by the Novel Coronavirus from Wuhan: an Analysis Based on Decade-Long Structural Studies of SARS Coronavirus. *J Virol*. 2020 Jan 29;94(7):127–47.
 18. Young T, Palta M, Dempsey J, Skatrud J, Weber S, Badr S. The Occurrence of Sleep-Disordered Breathing among Middle-Aged Adults. *N Engl J Med*. 1993 Apr 29;328(17):1230–5.
 19. Naqvi AAT, Fatima K, Mohammad T, Fatima U, Singh IK, Singh A, et al. Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach. Vol. 1866, *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*. Elsevier B.V.; 2020.
 20. Kirtipal N, Bharadwaj S, Kang SG. From SARS to SARS-CoV-2, insights on structure, pathogenicity and immunity aspects of pandemic human coronaviruses. Vol. 85, *Infection, Genetics and Evolution*. Elsevier B.V.; 2020.

21. Nishiura H, Linton NM, Akhmetzhanov AR. Initial Cluster of Novel Coronavirus (2019-nCoV) Infections in Wuhan, China Is Consistent with Substantial Human-to-Human Transmission. *J Clin Med*. 2020 Feb 11;9(2):488.
22. Sun SH, Chen Q, Gu HJ, Yang G, Wang YX, Huang XY, et al. A Mouse Model of SARS-CoV-2 Infection and Pathogenesis. *Cell Host Microbe*. 2020 Jul 8;28(1):124-133.e4.
23. Lu C wei, Liu X fen, Jia Z fang. 2019-nCoV transmission through the ocular surface must not be ignored. Vol. 395, *The Lancet*. Lancet Publishing Group; 2020. p. e39.
24. Amirian ES. Potential fecal transmission of SARS-CoV-2: Current evidence and implications for public health. Vol. 95, *International Journal of Infectious Diseases*. Elsevier B.V.; 2020. p. 363–70.
25. Abordagem do Doente com Suspeita ou Confirmação de COVID-19 - Norma 004/2020. 19/04/2021. Direção-Geral de Saúde; 2020.
26. Estratégia Nacional de Testes para SARS-CoV-2 - Norma 019/2020. Direção-Geral de Saúde; 2020.
27. Direção-Geral da Saúde. Testes Laboratoriais para SARS-CoV-2; Testes Rápidos - N.º 003/CD/100.20.200. 2020.
28. COVID-19: Medidas de prevenção – CH | Tâmega e Sousa [Internet]. [cited 2021 Jun 1]. Available from: <http://www.chts.min-saude.pt/noticias/covid-19-medidas-de-prevencao/>.
29. Direção-Geral de Saúde. Saúde e Atividades Diárias: Medidas Gerais de Prevenção e Controlo da COVID [Internet]. 2020 [cited 2021 Jun 3]. Available from: <https://www.sns.gov.pt/noticias/2020/05/15/saude-e-atividades-diarias/>.
30. Prevenção | SNS24 [Internet]. [cited 2021 Jun 1]. Available from: <https://www.sns24.gov.pt/tema/doencas-infecciosas/covid-19/prevencao/#sec-0>.
31. COVID-19: medidas de prevenção [Internet]. [cited 2021 Jun 3]. Available from: <https://www.medis.pt/mais-medis/covid-19/covid-19-medidas-de-prevencao/>.
32. Goldberger AL, Amaral LA, Glass L, Hausdorff JM, Ivanov PC, Mark RG, et al. PhysioBank, PhysioToolkit, and PhysioNet: components of a new research

- resource for complex physiologic signals. *Circulation*. 2000;101(23).
33. Procedimentos de prevenção, controlo e vigilância em empresas - Orientação 006/2020. 2020.
 34. Moreira S, Nogueira J. SAÚDE E TRABALHO medidas de prevenção da COVID-19 nas empresas. 28/04/2020. Direção-Geral da Saúde, editor. 2020.
 35. Agency EM. Comirnaty (COVID-19 mRNA vaccine [nucleoside modified]) How is Comirnaty used? [Internet]. *Science Medicines Health*. 2021 [cited 2021 Sep 13]. p. <http://www.ema.europa.eu>. Available from: www.ema.europa.eu/contact.
 36. Agency EM. ANNEX I SUMMARY OF PRODUCT CHARACTERISTICS - Vaxzevria. p. <http://www.ema.europa.eu>.
 37. Agency EM. ANNEX I SUMMARY OF PRODUCT CHARACTERISTICS - Spikevax. p. <http://www.ema.europa.eu>.
 38. Agency EM. COVID-19 Vaccine Janssen, INN-Ad26.COV2-S, recombinant. p. <http://www.ema.europa.eu>.
 39. COVID-19 vaccines | European Medicines Agency [Internet]. [cited 2021 Sep 13]. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/overview/public-health-threats/coronavirus-disease-covid-19/treatments-vaccines/covid-19-vaccines>.
 40. Coronavirus COVID-19 (SARS-CoV-2) | Johns Hopkins ABX Guide [Internet]. [cited 2021 May 23]. Available from: https://www.hopkinsguides.com/hopkins/view/Johns_Hopkins_ABX_Guide/540747/all/Coronavirus_COVID_19__SARS_CoV_2_.
 41. EMA advises against use of ivermectin for the prevention or treatment of COVID-19 outside randomised clinical trials | European Medicines Agency [Internet]. [cited 2021 Sep 13]. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/news/ema-advises-against-use-ivermectin-prevention-treatment-covid-19-outside-randomised-clinical-trials>.
 42. Lai CC, Shih TP, Ko WC, Tang HJ, Hsueh PR. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. Vol. 55, *International Journal of*

- Antimicrobial Agents. Elsevier B.V.; 2020.
43. Lu H. Drug treatment options for the 2019-new coronavirus (2019-nCoV). *Biosci Trends*. 2020;14(1):69–71.
 44. Salama C, Han J, Yau L, Reiss WG, Kramer B, Neidhart JD, et al. Tocilizumab in Patients Hospitalized with Covid-19 Pneumonia. *N Engl J Med*. 2021 Jan 7;384(1):20–30.
 45. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard | WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard With Vaccination Data [Internet]. [cited 2021 Jun 6]. Available from: <https://covid19.who.int/table?tableDay=yesterday>
 46. COVID-19 situation update worldwide, as of week 37, updated 23 September 2021 [Internet]. [cited 2021 Sep 28]. Available from: <https://www.ecdc.europa.eu/en/geographical-distribution-2019-ncov-cases>
 47. Alhajj M, Farhana A. Enzyme Linked Immunosorbent Assay. *StatPearls*. 2021 Feb 6.
 48. Macmullan MA, Ibrayeva A, Trettner K, Deming L, Das S, Tran F, et al. ELISA detection of SARS-CoV-2 antibodies in saliva. 2020;
 49. Supporting Information: Highly sensitive ELISA-based assay for quantification of allergen-specific IgE antibody levels. 2020.
 50. Peterhoff D, Glück V, Vogel M, Schuster P, Schütz A, Neubert · Philip, et al. A highly specific and sensitive serological assay detects SARS-CoV-2 antibody levels in COVID-19 patients that correlate with neutralization. 2021;49:75–82.
 51. Sinogas, Carlos; Condinho, Mónica; Branco, Cláudia; Vaz Velho, Catarina. TR4COVID - Tecnologias de diagnóstico e rastreio. Módulo 5 maio, 2020.
 52. Röltgen K, Powell A, Wirz O, Stevens B. Defining the features and duration of antibody responses to SARS-CoV-2 infection associated with disease severity and outcome. *Sci Immunol*. 2020 Dec 7;1–19.
 53. Galipeau Y, Greig M, Liu G, Driedger M, Langlois M-A. Humoral Responses and Serological Assays in SARS-CoV-2 Infections. 2019.
 54. Wang Y, Li J, Li H, Lei P, Shen G, Yang C. Persistence of SARS-CoV-2-specific antibodies in COVID-19 patients. *Int Immunopharmacol*.

2021;90:107271.

55. Duration of serum neutralizing antibodies for SARS-CoV-2: Lessons from SARS-CoV infection. *J Microbiol Immunol Infect.* 2020;53:821–2.
56. Murchu EO, Byrne P, Walsh KA, Carty PG, Connolly M, De Gascun C, et al. Immune response following infection with SARS-CoV-2 and other coronaviruses: A rapid review. 2020;
57. Testes Laboratoriais para SARS-CoV-2; Testes Rápidos - Circular Informativa Conjunta nº003/CD/100.20.200. Direção-Geral de Saúde; 2020.
58. Farmacêuticos O dos. Código Deontológico da Ordem dos Farmacêuticos. p. <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/a-ordem-dos-f>.
59. Farmacêuticos O dos. Comunicado de imprensa: Farmacêuticos disponíveis para apoiar testagem à COVID-19. 2020. p. <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/noticias/farm>.
60. Risco Esteve Pouco Assertiva C DE, Santos D. OS FARMACÊUTICOS E A PANDEMIA. ROF 131. 2020.
61. Direção-Geral de Saúde. Testes rápidos para COVID-19 nas farmácias [Internet]. 2020 [cited 2021 Sep 15]. p. <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/testes-covid->. Available from: www.infarmed.pt.
62. Direção-Geral de Saúde. Testes serológicos utilizados para determinar ou pesquisar a presença de anticorpos anti- SARS-CoV-2 [Internet]. 2020 [cited 2021 Sep 15]. p. <https://ordemfarmaceuticos.pt/pt/noticias/infarmed>. Available from: www.infarmed.pt.
63. Baratta F, Visentin GM, Ravetto Enri L, Parente M, Pignata I, Venuti F, et al. Community Pharmacy Practice in Italy during the COVID-19 (SARS-CoV-2) Pandemic: Regulatory Changes and a Cross-Sectional Analysis of Seroprevalence. *Public Health.* 2021;18:2302.
64. Stringhini S, Wisniak A, Piumatti G, Azman AS, Lauer SA, Baysson H, et al. Seroprevalence of anti-SARS-CoV-2 IgG antibodies in Geneva, Switzerland (SEROCoV-POP): a population-based study. *Lancet.* 2020 Aug 1;396(10247):313–9.

65. Stefanelli P, Bella A, Fedele G, Pancheri S, Leone P, Vacca P, et al. Prevalence of SARS-CoV-2 IgG antibodies in an area of northeastern Italy with a high incidence of COVID-19 cases: a population-based study. *Clin Microbiol Infect.* 2020.
66. Inquérito Serológico Nacional COVID-19 indica seroprevalência de 2,9% de infeção por SARS-CoV-2 em Portugal - INSA [Internet]. [cited 2021 Sep 15]. Available from: <http://www.insa.min-saude.pt/inquerito-serologico-nacional-covid-19-indica-seroprevalencia-de-29-de-infecao-por-sars-cov-2-em-portugal/>.
67. Segunda fase do Inquérito Serológico Nacional COVID-19 indica seroprevalência de 15,5% de infeção por SARS-CoV-2 - INSA [Internet]. [cited 2021 Sep 15]. Available from: <http://www.insa.min-saude.pt/segunda-fase-do-inquerito-serologico-nacional-covid-19-indica-seroprevalencia-de-155-de-infecao-por-sars-cov-2/>.
68. Relatório de Situação - COVID-19 [Internet]. [cited 2021 Jun 16]. Available from: <https://covid19.min-saude.pt/relatorio-de-situacao/>.
69. INE - Plataforma de divulgação dos Censos 2021 – Resultados Preliminares [Internet]. [cited 2021 Sep 26]. Available from: https://censos.ine.pt/scripts/db_censos_2021.html.
70. Concelho - Portal Institucional do Município de Mora [Internet]. [cited 2021 Jun 19]. Available from: <https://www.cm-mora.pt/municipe/mora/concelho/>.
71. Despacho 10009/2019, 2019-11-05 - DRE [Internet]. [cited 2021 Jun 26]. Available from: <https://dre.pt/web/guest/pesquisa/-/search/125879568/details/normal?l=1>.
72. Direção-Geral de Saúde. COVID-19: Diagnóstico Laboratorial. Orientação nº 015/2020. Atualização de 24/04/2020 [Internet]. 2020 [cited 2021 Jun 26]. p. <https://covid19.min-saude.pt/dgs-atualiza-orientac>. Available from: <https://covid19.min-saude.pt/dgs-atualiza-orientacao-sobre-diagnostico-laboratorial/>.
73. Teste COVID-19 | SNS24 [Internet]. [cited 2021 Jun 26]. Available from: <https://www.sns24.gov.pt/guia/teste-covid-19/>.
74. Portal do INE [Internet]. [cited 2021 Aug 8]. Available from:

https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_publicacoes&PUBLICACOESpub_boui=107961853&PUBLICACOESmodo=2&xlang=pt.

75. PORDATA - População residente segundo os Censos: total e por sexo [Internet]. [cited 2021 Sep 23]. Available from: <https://www.pordata.pt/Municipios/População+residente+segundo+os+Censos+total+e+por+sexo-17>.
76. PORDATA - População residente segundo os Censos: total e por grupo etário [Internet]. [cited 2021 Sep 4]. Available from: <https://www.pordata.pt/Municipios/População+residente+segundo+os+Censos+total+e+por+grupo+etário-19>.

8. Anexos

Anexo 1 – Instrumento para recolha de dados utilizado no estudo



farmácia Central de Mora
FARMÁCIAS HOLDING

ERS n.º E151232

TESTE SEROLÓGICO – COVID-19

Dados pessoais *

Nome: _____

Data de nascimento: _____ Nacionalidade: _____

Atividade profissional: _____ Contacto: _____

Habita sozinho(a)? Sim Não

Atividade profissional das pessoas com quem habita: _____

1. Residência / Viagem nos últimos tempos (Localidades)

--

2. Sintomatologia sugestiva

	Sim	Não	Observações
Febre (temperatura $\geq 38^{\circ}\text{C}$)			
Quadro respiratório agudo com tosse			
Fadiga			
Expetoração			
Dispneia (falta de ar)			
Dores musculares ou articulares			

3. Potenciais contactos de risco

Contacto	Positivo	Há quanto tempo
Observações:		

4. Testes efetuados

	Não	Sim / resultado	Há quanto tempo
RT-PCR RNA (zangatos)			
TARq			
Serológico			
Observações:			

5. Resultado do teste

Marca do teste	Teste Válido	IgG	IgM	Nota
Observações:				

* Adaptado de: Orientação 022/2020 – COVID-19: Procedimentos em Clínicas, Consultórios ou Serviços de Saúde Oral dos Cuidados de Saúde Primários, Setor Social e Privado
Norma 004/2020 (atualizada 25/04/2020) – COVID-19: Fase de mitigação – Abordagem do Doente com Suspeita ou Infecção por SARS-CoV-2

Anexo 2 – Consentimento informado específico para o estudo



Estudo epidemiológico de seroprevalência de anticorpos para SARS-CoV-2 no Concelho de Mora

CONSENTIMENTO INFORMADO

Os surtos de COVID-19 que têm atingido a população do concelho de Mora, têm tido um muito significativo impacto na comunidade local.

Face ao conhecimento que se tem da infeção pelo vírus SARS-CoV-2 e à seroprevalência global no país de cerca de 2,9%¹, terão existido, seguramente, muitas outras pessoas infetadas a quem não foram identificados contactos de risco nem sintomas sugestivos e que, por isso, não terão sido testadas.

Considerando o interesse de Saúde Pública, a Farmácia Central de Mora propõe-se desenvolver um estudo de seroprevalência de anticorpos anti-SARS-CoV-2 na população do concelho para melhor se perceber a real extensão dos surtos de COVID-19 que têm ocorrido.

A aplicação de testes serológicos permitirá avaliar a duração detetável de anticorpos nos indivíduos antes infetados ou que, entretanto, recebam uma das novas vacinas anti-COVID-19.

De salientar que a "deteção de anticorpos para o vírus (SARS-CoV-2) não é adequada para o diagnóstico da COVID-19". Adicionalmente, é essencial ter em conta que ainda se "desconhece qual o tipo e a duração dos anticorpos que são desenvolvidos no decurso da infeção e não é possível inferir sobre a sua qualidade neutralizante e/ou capacidade de induzir imunidade".²

O resultado reativo de um teste rápido válido, na ausência de reação cruzada e usando um valor preditivo positivo elevado (PPV>90% - dois testes positivos), significa que o participante terá sido exposto ao vírus SARS-CoV-2. Na presença de teste válido não reativo existe elevada probabilidade do participante não ter contactado com o vírus.

Para a realização do teste serológico rápido, é necessário:

1. Fornecer dados pessoais de identificação, bem como dados sociodemográficos;
2. Responder a um questionário sobre condições e fatores de risco de exposição ao vírus SARS-CoV-2 e sintomatologia associada à COVID-19;
3. Realizar uma punção capilar.

Os dados recolhidos serão utilizados de forma anónima para efeitos de interesse em Saúde Pública, como sejam estudos académicos, apresentação em congressos, artigos ou outras publicações científicas, sendo garantido, em qualquer situação, que o participante não será identificado nem identificável.

O participante pode, se assim o entender, desistir de realizar o teste a qualquer momento, sem prejuízo da assistência a que tem direito. Pode também, a qualquer altura, solicitar a eliminação dos seus dados, bastando para isso contactar o investigador responsável.

Eu li a anterior informação ou, foi-me lida. Declaro ter compreendido o racional que suporta a realização dos testes rápidos para deteção de anticorpos de SARS-CoV-2 e ter tido oportunidade de colocar as questões que me suscitaram dúvidas com obtenção de resposta esclarecedora.

Eu realizo voluntariamente o teste e autorizo a constituição do meu registo clínico. Autorizo também a utilização dos meus dados, de forma anónima ou agregada, exclusivamente para os efeitos acima referidos.

NOME

(completo): _____

(Assinatura do participante)

(Investigador responsável)

Data: ____ / ____ / ____

Nota: Este documento é feito em duas vias – uma para o processo e outra para ficar na posse de quem consente.

¹ <http://www.lnse.min-saude.pt/inquerito-serologico-nacional-covid-19-indice-seroprevalencia-de-29-de-infecao-por-sars-cov-2-em-portugal/>

² <https://www.dgs.pt/directizos-de-dgs/orientacoes-e-circulares-informativos/orientacao-n-0152020-de-23032020-pdf.aspx>

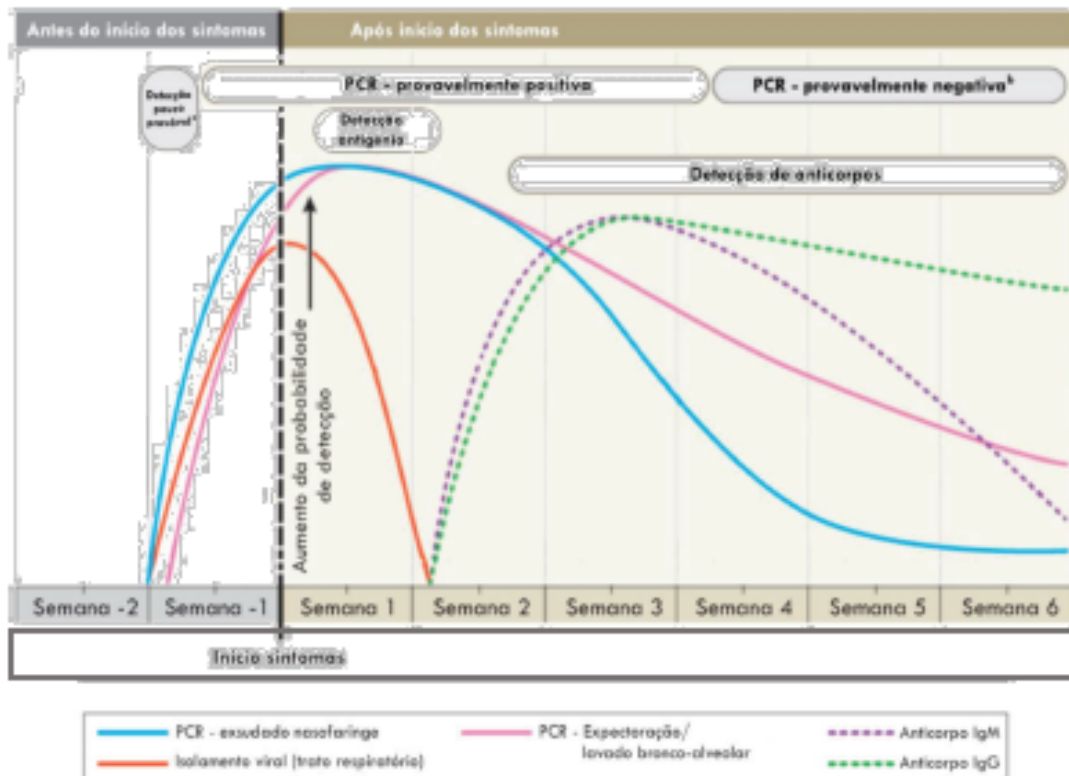
Anexo 3 – Cartão entregue com o resultado do teste

Nome:		Data:	
	Teste válido (S/N)	Reativo (S/N)	Observações
Anticorpos IgG			
Anticorpos IgM			
Sensibilidade > 85%; Especificidade > 94%; PPV > 91,4 (2 testes reativos)			

"A deteção de anticorpos para o vírus (SARS-CoV-2) não é adequada para o diagnóstico da COVID-19, e pode não excluir a possibilidade de uma infeção"
(INFARMED, Comunicado à Ordem dos Farmacêuticos 3/06/2020)

Interpretação		Sugestão
IgM (-); IgG (-)	Antes da exposição ao vírus	Repetir após 2 semanas
IgM (-); IgG (+)	Depois da exposição ao vírus	Registar situação
IgM (+) ou IgM (+) e IgG (+)	Infeção em fase ativa provável (2 a 4 semanas)	Repetir, na confirmação contactar Linha SNS 24

(Para teste válido, na ausência de reação cruzada e fora do período de janela seronegativa)



Testes Laboratoriais para SARS-CoV-2; Testes Rápidos. Circular Informativa Conjunta da Direção-Geral da Saúde, INFARMED e Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge. N.º 003/CD/100.20.200, de 27 de maio de 2020.

Anexo 4 – Folheto informativo de um dos testes utilizados no estudo

Abbexa COVID-19 IgG/IgM Rapid Test Kit
Instructions For Use
 Revision Date: 17/12/2020
 Version: 10.0.0



REF Catalog No: abx294171

RUD For research use only

INTENDED USE

The COVID-19 IgG/IgM Rapid Test Kit is a single-use device. It is a lateral flow immunoassay which detects IgG and IgM antibodies in serum, plasma, and whole blood samples against SARS-CoV-2, the virus that causes COVID-19. The presence of such antibodies indicates if exposure to a coronavirus has taken place, and whether it is a newer or older exposure.

SUMMARY

Results are for the detection of SARS-CoV-2 antibodies. IgM antibodies to SARS-CoV-2 are generally detectable in blood several days after initial infection, although levels over the course of infection are not well characterized. IgG antibodies to SARS-CoV-2 become detectable later following infection. Positive results for both IgG and IgM could occur after infection and can be indicative of acute or recent infection. Laboratories within the United States and its territories are required to report all positive results to the appropriate public health authorities. A CLIA categorization of this device would be consistent with other serology lateral flow moderate complexity devices.

Negative results do not preclude SARS-CoV-2 infection and should not be used as the sole basis for patient management decisions. IgM antibodies may not be detected in the first few days of infection; the sensitivity of the abx294171 SARS-CoV-2 IgG/IgM Rapid Test Kit early after infection is unknown.

False positive results for IgM and IgG antibodies may occur due to cross-reactivity from pre-existing antibodies or other possible causes.

At this time, it is unknown for how long IgM or IgG antibodies may persist following infection.

For research use only.

BACKGROUND

The Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) is an emergent virus responsible for the respiratory illness Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). First documented in the city of Wuhan (China), it has spread to most countries across the globe.

The original source of SARS-CoV-2 is unknown. It has been reported to have high similarity to coronaviruses found in bats and pangolins, however, neither of these animals are thought to have been sold in the meat market that the earliest patients visited, suggesting an intermediate host.

The virus is easily transmitted from person to person, primarily via droplets. Infected individuals can reduce transmission rates by wearing a face mask or covering the mouth when coughing/ sneezing, by sanitizing their hands regularly, and by self-isolating. People who have not yet been infected can wear a face mask and use eye protection to block droplets, not touch their face or food without sanitizing first, and avoid crowded areas.

The mortality rate for COVID-19 has been difficult to calculate due to the number of undiagnosed cases. Estimates range from 0.02% to 14%; most center at approximately 2-4%. The threat to the average healthy adult is low, however immunodeficiencies or respiratory illnesses can increase the mortality risk substantially.

TEST PRINCIPLE

The Abbexa COVID-19 IgG/IgM Rapid Test Kit is a lateral flow immunoassay which can detect antibodies against the SARS-CoV-2/COVID-19 virus. The sample pad inside the cassette contains gold nanoparticles coated with COVID-19 antigens and mouse IgG. Antibodies against human IgM and IgG are coated in their respective regions on a nitrocellulose membrane, creating the test lines, and Goat



anti-Mouse IgG antibodies are coated on the control line. The control region on the upper end of the cassette confirms if the test has been successful.

The test comes with a cassette, buffer, pipette, and an optional disposable lancet. When a correct volume of test sample and buffer is dispensed into the sample well of the test cassette, the sample migrates by capillary action along the cassette. If there are any antibodies in the blood against SARS-CoV-2 virus, they will bind to the SARS-CoV-2 conjugates. If IgG is present in the sample, the immunocomplex will then be captured by the anti-human IgG line, forming a purple-colored G Line, indicating a SARS-CoV-2 virus IgG positive test result. If IgM is present in the sample, the immunocomplex will be captured by the anti-human IgM line, forming a purple-colored M Line, indicating a SARS-CoV-2 virus IgM positive test result.

Information regarding the immune response to SARS-CoV-2 is limited and still evolving. At this time, it is unknown how long IgM or IgG antibodies may persist following infection.

The test contains an internal control (C Line) which exhibits a purple-colored band of goat anti-mouse IgG / mouse IgG-gold conjugate immunocomplex regardless of the color development on any of the test bands (G and M Lines). If no control band is observed, the test result is invalid and the sample must be retested.

REAGENTS AND MATERIALS

The kit can be bought in 25 test and 50 test sizes. The number of components for each size are as follows:

Catalogue #		abx294171	
Kit size (tests)		25	50
Components	Cassette (unit)	25	50
	Sample Buffer (ml)	4.5	7
	Transfer pipette (unit)	25	50
	Lancet* (unit)	25	50
	IFU (unit)	1	1

*Lancet is optional

Abbexa COVID-19 IgG/IgM Rapid Test Kit

Instructions For Use
Revision Date: 17/12/2020
Version: 10.0.0

Composition

Conjugate Pad	Gold nanoparticles coated with SARS-CoV-2 spike and nucleocapsid proteins, and mouse IgG.
G Line	Mouse monoclonal antibody to human IgG
M Line	Mouse monoclonal antibody to human IgM
C Line	Goat polyclonal antibody to mouse IgG
Sample Buffer	Tris(hydroxymethyl)aminomethane (Tris), polyorbate 20, ProClin 300.

Other Material Required But Not Provided

Paper towel (or similar clean absorbent material), soap, clean water.

STORAGE AND STABILITY

1. Store the buffer and cassette at 2-30°C (36-86°F). These components are stable for a minimum of 12 months.
3. If stored at 2-8°C, ensure that the test device is brought to 15-25°C before opening.
4. Do not freeze the kit or store the kit over 30°C.

SAMPLE COLLECTION AND PREPARATION

Consider any materials of human origin as infectious and handle using the appropriate standard biosafety procedures.

TEST PROCEDURE

Instructions for use with whole blood (hospital test)



Place the cassette on a level surface at room temperature (15-25°C, 59-77°F).



Wash hands thoroughly with soap and water. Ensure fingertips are clean and dry.



Twist off the white cap on the lancet. Press against the fingertip to puncture.



Use a clean paper towel or similar material to wipe off the first drop of blood.



Gently massage the finger from knuckle to fingertip to allow a second drop of blood to form.



Add 1 drop of blood (using the pipette provided) into the cassette's well (approximately 20 µl).



Add 3 drops of buffer (using the dropper on the buffer bottle, 90-120 µl) into the well.



Wait 10 minutes.



Read the results (see interpretation of results section).

Instructions for use for serum and plasma (laboratory test)

1. Briefly centrifuge sample to remove any precipitate.
2. Equilibrate sample and cassette to room temperature (15-25°C).

3. Add 20 µl of sample into the cassette's well.
4. Add 1 drop of buffer (30-40 µl) into the cassette's well.
5. Wait 10 minutes.
6. Read the results (see interpretation of results section).

QUALITY CONTROL

Internal Control: This test contains a built-in control feature, the C Line. The C Line develops after addition of the sample and sample diluent. If the C Line does not develop, the test is invalid. Review the procedure and repeat the test with a new device.

INTERPRETATION OF ASSAY RESULTS

1. Valid Assay

The readout should show 1 line in the C (control) region. Purple lines may appear next to the G (IgG) and M (IgM) regions depending on exposure to coronavirus. Faint lines are treated as a positive result.

1.1 C, G, and M regions are positive: patient recently infected or re-infected with coronavirus.

1.2 C and G regions positive, M region negative: patient previously infected with coronavirus.

1.3 C and M regions positive, G region negative: patient recently infected with coronavirus for the first time.

1.4 C region positive, G and M regions negative: patient not showing immune response to coronavirus.

2. Invalid Assay

C region negative, G and M regions either positive or negative: test did not function correctly.

Negative results do not rule out SARS-CoV-2 infection, particularly for patients who have been in contact with known infected persons or in areas with high prevalence of active infection. Follow-up testing with a molecular diagnostic test is necessary to rule out infection in these individuals.

Results from antibody testing should not be used as the sole basis to diagnose or exclude SARS-CoV-2 infection.

False positive results may occur due to cross-reacting antibodies from previous infections, such as other coronaviruses, or from other causes.

Samples with positive results should be confirmed with alternative testing method(s) and clinical findings.



Abbexa COVID-19 IgG/IgM Rapid Test Kit

Instructions For Use
Revision Date: 17/12/2020
Version: 10.0.0



of clinical symptoms. These samples, along with one thousand, two hundred and sixty (1260) negative serum samples were coded and tested together with the abc294171 SARS-CoV-2 IgG/IgM Rapid Test Kit. Of the 539 positive samples, five hundred and thirteen (513) tested positive with IgG and/or IgM. Of the 1260 negative samples, one thousand, two hundred and twenty-nine (1229) tested negative.

Taken together, the abc294171 SARS-CoV-2 IgG/IgM Rapid Test had a sensitivity and specificity of 95.18% and 97.54%, respectively.

KIT result	Hospital result		Total
	Positive	Negative	
Positive	513	31	544
Negative	26	1229	1255
Total	539	1260	1799

Sensitivity / Percentage Positive Agreement (PPA) = 513/539 (95.18%), 95% CI: 93.37% to 96.99%

Specificity / Negative Percentage Agreement (NPA) = 1229/1260 (97.54%), 95% CI: 96.68% to 98.40%

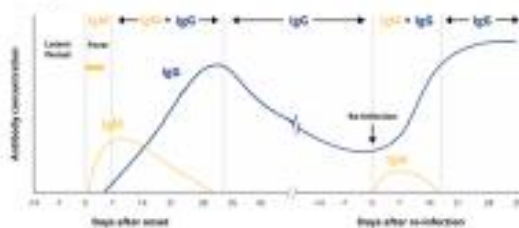
1.2 Study of: Serum samples compared to other sample types

One hundred and twenty-five (125) positive serum samples were compared to their venous blood equivalents. Another seventy-eight (78) negative serum samples were compared to their venous blood equivalent. These 203 samples were coded and tested with the abc294171 SARS-CoV-2 IgG/IgM Rapid Test kit. Of the 125 positive serum samples, all 125 tested positive with whole blood. Of the 78 negative serum samples, 75 tested negative with whole blood. Pearson's Rank Correlation Coefficient (ρ) was calculated to be 0.993.

Thirteen (13) positive and seven (7) negative serum samples were compared against matching plasma samples produced using heparin, EDTA, or citrate. There was no variation of results between sample types; all had matching IgG and IgM profiles.

Forty (40) positive and thirty (30) negative serum samples were compared against matching venous blood, plasma, and finger prick blood samples. There was no variation of results between sample types; all had matching IgG and IgM profiles.

Relationship between antibody concentration and viral infection stage



During the first infection, IgM concentrations in the body rise quickly, then eventually decline as the concentration of IgG increases. In subsequent infections, IgM concentrations increase a small amount and IgG increases substantially.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

1. Clinical Performance

1.1 Study of: Testing of RT-PCR positive clinical samples

Five hundred and thirty-nine (539) positive serum samples collected from individuals who tested positive with a RT-PCR method for SARS-CoV-2 infection and were quarantined in a hospital were used in this study. These patients, at the time of sample collection, exhibited a range

2. Assay Cross Reactivity

Cross-reactivity of the COVID-19 IgG/IgM Rapid Test Kit was evaluated using serum or plasma samples which contain antibodies to the pathogens listed below. This test had no observable cross-reactivity with the following anti-pathogen antibodies:

- Adenovirus
- Chlamydia pneumoniae
- Chickenpox virus
- Coronavirus HKU1
- Coronavirus OC43
- Coronavirus NL63
- Coronavirus 229E
- Cytomegalovirus
- Epstein-Barr virus (EBV)
- Enterovirus 71
- Hepatitis B virus (HBV)
- Hepatitis C virus (HCV)
- Human immunodeficiency virus (HIV)
- Influenza A
- Influenza B
- Measles Virus
- Mumps Virus
- Mycoplasma pneumoniae
- Parainfluenza virus
- Respiratory syncytial virus
- Treponema pallidum



Abbexa COVID-19 IgG/IgM Rapid Test Kit

Instructions For Use
Revision Date: 17/12/2020
Version: 10.0.0

3. Substance Interference

This test had no observable interference with the following substances at or below the listed concentrations.

Anti-mitochondrial antibodies	80U/ml
Anti-nuclear antibodies	1:240
Bilirubin	250 µMol/L
Hemoglobin	9 g/L
Mouse IgG	1000 µg/ml
Rheumatoid factor (anti-IgG autoantibodies)	80 IU/ml
Triglycerides	15 mMol/L

4. Therapeutic Interference

This test had no observable interference with the following therapeutic agents at or below the listed concentrations.

Azithromycin	100 mg/L
Ceftriaxone	400 mg/L
Hydroxymethyl dithydrochloride	80 mg/L
Interferon alfa (IFN-α)	200 mg/L
Levofloxacin	200 mg/L
Lopinavir	40 mg/L
Meropenem	200 mg/L
Oseltamivir	30 mg/L
Paracetamol	40 mg/L
Ribavirin (ribavirin)	40 mg/L
Ritonavir	40 mg/L
Tobramycin	100 mg/L
Umifenovir	40 mg/L
Zanamivir	40 mg/L

WARNINGS

1. This package insert must be read completely before performing the test. Failure to follow directions in insert may yield inaccurate test results.
2. Keep out of reach of children.
3. Dispose of the kit after use or expiry. Dispose of used test in a biohazard bin.
4. Avoid exposure of test to high temperatures, humidity, and/or strong odors.
5. Do not eat any components of the test, including the buffer. If buffer is swallowed, take plenty of water and seek medical attention. Do not induce vomiting.
6. Do not use the components of any other type of test kit as a substitute for the components in this kit.
7. Wear protective clothing and disposable gloves while handling the kit reagents and clinical samples. Wash hands thoroughly after performing the test.
8. Do not remove outer packaging of components until ready to use.
9. Do not perform the test in a room with strong air flow, i.e. an electric fan or strong air-conditioning.
10. Do not exceed 15 minutes when waiting for results.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

1. The C region confirms that appropriate levels of capillary action (i.e. wicking) have taken place for the test to have worked.
2. The COVID-19 IgG/IgM Rapid Test Kit is intended for scientific research use only. The kit is suitable only for the qualitative detection of human IgG and IgM antibodies in serum, plasma, or whole blood. Other sample types have not been tested.
3. There may be some cross-reactivity of this kit to other coronaviruses. A positive test is not proof that the causative agent is SARS-CoV-2 / COVID-19.
4. The test detects antibodies to SARS-CoV-2; it does not directly confirm if the patient is an active carrier of the virus. Conversely, active carriers of the virus may show a negative antibody result. Other tests (such as qPCR) may be required in combination for diagnosis, particularly for negative results. IgG antibodies can typically be detected approximately 14 days after infection.

5. A patient with a negative test result may obtain a positive result at a later date.
6. Results from patients with immune disorders (e.g. hyper-IgM syndrome, SCID, agammaglobulinemia) may need to be interpreted differently.
7. Lines may appear darker or fainter according to the relative antibody concentration in the sample.
8. If using a lancet and whole blood sample, it is recommended to use a non-index finger in the non-dominant hand.
9. This is a qualitative test; it is not suitable for quantitative or semi-quantitative determination of antibodies.
10. No hook effect was observed with clinically-relevant antibody concentrations.
11. Plasma and serum samples with hemolysis are not suitable for testing.
12. This test has not yet been reviewed by the US FDA.
13. This test is not suitable for screening donated blood.

INQUIRIES AND GENERAL INFORMATION

Please visit website www.abbexa.com

ORDERING

Contact Abbexa via email: orders@abbexa.com

TECHNICAL

Via email: support@abbexa.com

Store between
2-30°C

For research use only

Catalog number

Abbexa LTD.
181 Cambridge Science Park
Cambridge, CB4 0GJ
United Kingdom
T: +44 (0) 1223 758950

Abbexa LLC.
11152 Westheimer Rd #600
Houston, TX 77042
USA
T: +1 832 327 7413

LANCET MANUFACTURER

Owen Mumford
Brook Hill, Woodstock
Oxfordshire, OX20 1TU
United Kingdom
E: info@owenmumford.com
T: +44 (0) 1993 812021

Anexo 5 – Procedimento detalhado da realização do teste

Procedimento:

- 1 – Cumprimentar, convidar a entrar no gabinete e a sentar na cadeira disponibilizada especificamente para o participante;
- 2 – Preencher o consentimento informado (*Anexo 2*), explicar a importância da participação neste tipo de estudos e aplicar o instrumento para recolha de dados (*Anexo 1*);
- 3 – Efetuar o teste.
 - 3.1 - Lavar as mãos de forma conveniente e colocar luvas;
 - 3.2 – Colocar o material necessário em cima da secretária, retirar o teste da embalagem e colocar em cima da mesa (em superfície plana e horizontal);
 - 3.3 - Após a preparação, começar por aquecer o dedo e massajar (para uma circulação sanguínea adequada)
 - 3.4 – Desinfetar com compressa e álcool a 70º do dedo anelar da mão esquerda (no caso de ser destro) ou da mão direita (no caso de ser esquerdino);
 - 3.5 - Deixar secar bem o dedo;
 - 3.6 – Efetuar a punção;
 - 3.7 - Utilizar uma compressa para retirar a primeira gota;
 - 3.8 - Continuar a massajar o dedo de modo que se forme uma gota de, aproximadamente, 20 µL;
 - 3.9 – Aspirar a gota com a pipeta conta gotas;
 - 3.10 – Colocar a gota no local da amostra do biossensor;
 - 3.11 – Adicionar de seguida 3 gotas (90 a 120 µL) de solução tampão;
- 4 - Limpar o excesso de sangue do dedo, novamente com algodão ou compressa embebida em álcool;
- 5 - Colocar um penso rápido para estancar o sangue e manter o utente mais confortável;

6 – Ler o resultado passados 10 minutos;

6.1 – Quando positivo: registar de imediato, quando negativo: esperar mais 20 minutos e efetuar nova leitura;

7 – Anotar o resultado no cartão (*Anexo 3*) e entregar ao participante;

8 - Prestar um aconselhamento personalizado em função dos dados recolhidos;

9 – Agradecer a participação no estudo, e;

10 - Cumprimentar.