



Univerza v Ljubljani | Medicinska fakulteta
INŠTITUT ZA MIKROBIOLOGIJO IN IMUNOLOGIJO

univerzitetni
klinični center ljubljana
University Medical Centre Ljubljana

Univerza v Ljubljani
Fakulteta *za računalništvo in informatiko*

Univerza v Ljubljani
Medicinska fakulteta

Univerza v Ljubljani
Fakulteta *za družbene vede*



NACIONALNA RAZISKAVA O RAZŠIRJENOSTI BOLEZNI COVID-19 V SLOVENIJI

PRELIMINARNO POROČILO
Različica 2.0

Ljubljana, 08. 09. 2020

KAZALO VSEBINE

I. SEZNAM PRILOG	4
II. SPREMNA BESEDA	5
1. UVOD	7
2. PREISKOVANCI IN METODE	9
2.1 Zasnova raziskave	10
2.1.1 Trajanje raziskave	11
2.2 Opis izbire oseb, povabljenih v raziskavo	11
2.2.1 Vzorčni načrt	11
2.2.2 Velikost vzorca	12
2.2.3 Struktura vzorca	15
2.3 Merila za vključitev, ne vključitev, izključitev v/iz raziskave	17
2.4 Klicni center	17
2.5 Zbiranje kliničnih vzorcev	18
2.5.1 Odvzem brisa zgornjih dihal in vzorca krvi	18
2.5.2 Transport kliničnih vzorcev	18
2.5.3 Zbiranje podatkov o kliničnih simptomih in znakih ter kontaktih preiskovancev	19
2.6 Testiranje kliničnih vzorcev	19
2.6.1 Testiranje brisov nosnega dela žrela na prisotnost SARS-CoV-2 RNA	19
2.6.2 Testiranje vzorcev krvi na prisotnost protiteles proti SARS-CoV-2	22
2.6.3 Izvidi in sporočanje rezultatov	26
2.7 Longitudinalna aktivna in pasivna kohortna raziskava	27
2.8 Statistična obdelava podatkov	27
2.8.1 Enostavni slučajni vzorec	29
2.8.2 Popravek za specifičnost in občutljivost	29
2.8.3 Popravek za neodziv	33
2.9 Razvoj aplikacije in informacijska podpora	33
3. REZULTATI	41
3.1 Reprezentativnost vzorca	41
3.2 Poročilo klicnega centra	43
3.3 Poročilo terenskega dela	45
3.4 Ocena okuženosti oz. populacijske prevalence aktivnih okužb s SARS-CoV-2 konec aprila 2020 v Sloveniji	46
3.5 Preliminarna ocena prekuženosti oz. deleža populacije, ki je že prišel v stik s SARS-CoV-2 v Sloveniji do konca aprila 2020	46

3.5.1 Osnovna ocena prekuženosti konec aprila 2020	47
3.5.2 Popravljen ocena prekuženosti glede na oceno specifičnosti testa z dne 15. 06. 2020. ..	48
3.6 Rezultati longitudinalne aktivne in pasivne kohortne raziskave	53
3.6.1 Rezultati prvega obdobja sledenja (18. 05. 2020 – 24. 05. 2020)	53
3.6.2 Rezultati drugega obdobja sledenja (08. 06. 2020 – 15. 06. 2020)	54
3.6.3 Rezultati tretjega obdobja sledenja (29. 06. 2020 – 05. 07. 2020)	55
3.6.4 Rezultati četrtega obdobja sledenja (20. 07. 2020 – 27. 07. 2020)	56
3.6.5 Rezultati petega obdobja sledenja (10. 08. 2020 – 17. 08. 2020)	57
3.6.6 Rezultati šestega obdobja sledenja (01. 09. 2020 – 07. 09. 2020)	59
4. DISKUSIJA	61
4.1 Neodgovori	61
4.2 Pristranskost zaradi neodgovorov	63
4.3 Uteževanje	65
4.4 Točkovne in intervalne ocene	67
4.5 Umestitev izsledkov slovenske raziskave v mednarodni prostor	68
4.5.1 Populacijske raziskave okuženosti oz. razširjenosti trenutno potekajočih aktivnih okužb s SARS-CoV-2	69
4.5.2 Populacijske raziskave prekuženosti oz. deleža populacije, ki je že prišel v stik s SARS-CoV-2	70
4.5.3 Populacijske raziskave, ki istočasno merijo okuženost in prekuženost	73
5. LITERATURA	74
SEZNAM SODELUJOČIH RAZISKOVALCEV	80
ZAHVALA	83

I. SEZNAM PRILOG

PRILOGA 1	Anonimni vprašalnik raziskave
PRILOGA 2	Spremni dopis preiskovancem
PRILOGA 3	Izjava o zavestni in svobodni privolitvi
PRILOGA 4	Pojasnilo o raziskavi
PRILOGA 5	Vprašalnik ob sledenju
PRILOGA 6	Članek "Low prevalence of active COVID-19 in Slovenia: a nationwide population study on a probability-based sample"

II. SPREMNA BESEDA

Preliminarni rezultati Nacionalne raziskave o razširjenosti bolezni COVID-19 v Sloveniji so bili slovenski javnosti prvič predstavljeni na novinarski konferenci 06. 05. 2020 (<https://vzivo.sta.si/>). Preliminarni rezultati so bili predstavljeni v luči spoznanj in dejstev, ki so bili mednarodni znanstveni javnosti poznani konec aprila oz. na začetku maja 2020.

Zaradi velikega interesa tuje javnosti je bilo gradivo, ki je bilo predstavljeno na novinarski konferenci in nekateri pripadajoči dokumenti sredi maja 2020 prevedeno v angleščino in posredovano slovenski ambasadorki pri Organizaciji za gospodarsko sodelovanje in razvoj (OECD) ter glavnemu tajniku OECD za javno zdravje, ki sta poročilo o zasnovi in preliminarnih izsledkih slovenske raziskave delila z ostalimi državami članicami OECD za interno uporabo.

Število raziskav povezanih s COVID-19 kot tudi njihovi izsledki objavljeni v recenzirani znanstveni literaturi se dnevno kopičijo s predhodno nepredstavljivo hitrostjo, količino in kvaliteto, zato smo se vodilni raziskovalci odločili, da bomo recenzirano znanstveno literaturo skrbno in kritično spremljali in skladno z novimi izsledki sproti objavljali posodobljene različice preliminarnega poročila o Nacionalni raziskavi o razširjenosti COVID-19 v Sloveniji. V preliminarnem poročilu (različica 1.0), z dne 30. 06. 2020, je bila povzeta metodologija raziskave, s posebnim poudarkom na opisu izbrane populacije, izbiri diagnostičnih testov uporabljenih v raziskavi, preliminarnih rezultatih prvega kroga Nacionalne raziskave ter rezultatih prvih dveh obdobjev longitudinalnega spremljanja sodelujočih. Rezultati so bili predstavljeni in ovrednoteni v luči spoznanj, ki v času izvajanja prvega dela raziskave ter predstavitve preliminarnih rezultatov še niso bili na voljo in tega, kar smo in so raziskovalci v mednarodnem prostoru odkrili o novem SARS-CoV-2 do sredine junija 2020.

V pričujočem dokumentu (Preliminarno poročilo – različica 2.0) so predstavljeni nadaljnji rezultati longitudinalnega spremljanja sodelujočih in novi izsledki populacijskih raziskav, ki so na podlagi naključnega ali reprezentativnega vzorca prebivalcev, podale oceno razširjenosti (okuženosti in/ali prekuženosti) okužb s SARS-CoV-2 in so bile objavljene v recenzirani znanstveni literaturi do konca avgusta 2020. Končno poročilo Nacionalne raziskave o razširjenosti bolezni COVID-19 v Sloveniji bo predvidoma objavljeno konec novembra 2020.

Raziskovalci Nacionalne raziskave o razširjenosti bolezni COVID-19 v Sloveniji nameravamo izsledke raziskave objaviti tudi v več člankih v recenziranih mednarodnih medicinskih revijah. Prvi članek z naslovom »*Low prevalence of active COVID-19 in Slovenia: a nationwide population study on a probability-based sample*« (priloga 6) je bil dne 10. 07. 2020 sprejet v objavo v revijo *Clinical Microbiology and Infection* s faktorjem vpliva $IF=7,117$ (2019), ki je v globalnem merilu četrta najboljša revija v kategoriji infekcijskih bolezni (Infectious Diseases).

1. UVOD

Pandemija okužbe z novim koronavirusom SARS-CoV-2 predstavlja verjetno največji izziv za celotno človeštvo po 2. svetovni vojni. Odkrivanje in sledenje širjenja okužb s SARS-CoV-2 spremljajo negotovost in številne neznanke glede ključnih značilnosti povzročitelja, zlasti njegove nalezljivosti in sposobnosti širjenja v človeški populaciji. Države se s pandemijo spopadajo bolj ali manj uspešno. Na uspešnost omejevanja pandemije v veliki meri vplivata hitrost in obseg uvajanja ustreznih zaščitnih ukrepov, ki zmanjšujejo možnost hitrega širjenja virusa med populacijo in s tem omogočajo, da je priliv novih bolnikov v bolnišnice še obvladljiv in vzdržen za zdravstveni sistem. Za obvladovanje pandemije je ključnega pomena tudi ustrezno testiranje s preverjenimi, zanesljivimi in validiranimi laboratorijskimi testi, ki jih izvaja usposobljeno laboratorijsko osebje pod nadzorom usposobljenih strokovnjakov, hitro obveščanje o rezultatih ter natančno epidemiološko poizvedovanje o kontaktih z ustreznimi navodili za morebitne okužene in njihove kontakte.

Nadzor nad okužbami se je v Sloveniji po navodilih Ministrstva za zdravje konec aprila 2020 osredotočil predvsem na testiranje bolnikov s težjim potekom bolezni, bolnike z blažjim potekom bolezni pa se je testiralo le v primeru, če so bili starejši od 60 let, imeli dejavnike tveganja za težji potek (visok krvni tlak, sladkorna bolezen, srčno-žilne, pljučne, ledvične ali jetrne bolezni) ali če je šlo za osebe z imunskimi pomanjkljivostmi, ne glede na starost. Nacionalna priporočila za testiranje so se med potekom pandemije večkrat spremenila, prav tako kot priporočila za sledenje tesnih stikov. Na podlagi selektivnega testiranja samo tistega dela populacije, ki je izpolnjevalo trenutne kriterije za testiranje, je bilo zato nemogoče oceniti, kakšna je dejanska prevalenca aktivne okužbe s SARS-CoV-2 v splošni populaciji.

Najpomembnejši in praktično najuporabnejši cilj prvega kroga nacionalne raziskave je bila ocena okuženosti splošne populacije s SARS-CoV-2 v Sloveniji konec aprila 2020. Na verjetnostnem vzorcu populacije smo skušali v najkrajšem možnem času podati čimbolj natančen odgovor na naslednje ključno vprašanje: koliko ljudi v Sloveniji je bilo konec aprila 2020 aktivno okuženih z virusom SARS-CoV-2 in niso bili odkriti v okviru obstoječega načina testiranja in sledenja kontaktov? Informacija o prevalenci aktivne okužbe s SARS-CoV-2 v splošni populaciji, pridobljena v naši raziskavi je bila v veliko pomoč odločevalcem pri sprejemanju ustreznih odločitev o tem, kdaj lahko začnemo z

nadzorovanim kratkoročnim in dolgoročnim rahljanjem ukrepov, uvedenih z namenom omejevanja epidemije okužb s SARS-CoV-2, postopnim odpiranjem trgovin, šol, podjetij in ponovnim zagonom gospodarstva.

Natančno longitudinalno spremljanje dobro definirane kohorte preiskovancev in njihovih družinskih članov od maja do oktobra 2020, ki trenutno še vedno poteka, predstavlja dodatno pomembno orodje, ki odločevalcem skupaj z uradnimi podatki, ki prihajajo iz rutinskega diagnostičnega dela testiranja ter testiranja samoplačnikov, omogoča pravočasno preventivno ukrepanje ob morebitnih poslabšanjih ali izboljšanjih epidemiološkega stanja v državi.

Po zaključenem drugem krogu raziskave (predvidoma konec oktobra 2020) bomo, kolikor bo mogoče natančno, lahko podali tudi odgovore na preostala znanstvena vprašanja nacionalne raziskave in sicer oceno prekuženosti splošne populacije v Sloveniji, torej delež ljudi, ki so prišli v kontakt s SARS-CoV-2 v prvih sedmih mesecih pandemije ter delež asimptomatskih okužb med osebami z nedvomno laboratorijsko dokazano prebolelo okužbo s SARS-CoV-2.

2. PREISKOVANCI IN METODE

Raziskava je zasnovana kot monocentrična interdisciplinarna raziskava nacionalnega pomena. Nosilec projekta je Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo (IMI) Medicinske fakultete (MF) Univerze v Ljubljani (UL), ki raziskavo koordinira in kjer se izvaja celotno molekularno in serološko testiranje na SARS-CoV-2. Podporo pri izvedbi posameznih segmentov raziskave nudijo sodelavci iz naslednjih ustanov:

- Fakulteta za družbene vede UL, Center za raziskovanje javnega mnenja in množičnih komunikacij in Center za družboslovno informatiko (priprava statistično reprezentativnega vzorca prebivalcev Slovenije v sodelovanju s SURS, svetovanje in pomoč pri izvedbi vzorčenja in anketiranja, analiza vzorca in uteževanje);
- Fakulteta za računalništvo in informatiko UL, Laboratorij za bioinformatiko (celovita informacijska in podatkovno-analitična podpora projekta, ki vključuje pripravo centralne baze za zbiranje podatkov, razvoj spletne aplikacije za vnos podatkov, vzpostavitev spletnega vmesnika za nadzor poteka študije, vzpostavitev varnega okolja za shranjevanje administrativnih, kliničnih in z vprašalnikom pridobljenih podatkov, celovita anonimizirana analiza podatkov raziskave);
- Univerzitetni klinični center Ljubljana (odvzem kliničnih vzorcev na terenu, sodelovanje pri klinični obravnavi preiskovancev);
- Klinika za infekcijske bolezni in vročinska stanja (sodelovanje pri klinični obravnavi preiskovancev);
- Medicinska fakulteta UL, Katedra za infekcijske bolezni in epidemiologijo (pomoč pri epidemiološki obravnavi in epidemiološki analizi podatkov);
- Reševalna služba Pacient d.o.o. (odvzem kliničnih vzorcev na terenu).

2.1 Zasnova raziskave

Raziskava je zasnovana v dveh fazah:

- Prva faza: presečna raziskava na verjetnostnem vzorcu populacije za čimbolj natančno oceno prevalence trenutno potekajočih aktivnih okužb s SARS-CoV-2 (okuženosti) ter preliminarno oceno populacijske kumulativne incidence okužb s SARS-CoV-2 (prekuženosti):
 - pripravljen je bil verjetnostni vzorec populacije prebivalcev Slovenije, vsi so bili kontaktirani po pošti in tisti z javno dostopno telefonsko številko dodatno po telefonu;
 - preiskovancem, ki so pristali na sodelovanje, je ustrezno usposobljen zdravstveni delavec odvzel bris nosnega dela žrela za molekularno testiranje na SARS-CoV-2 RNA za oceno okuženosti oz. razširjenosti trenutno potekajočih aktivnih okužb in vzorec krvi za serološko testiranje na anti-SARS-CoV-2 protitelesa za oceno prekuženosti oz. deleža populacije, ki je že prišel v stik s SARS-CoV-2;
 - preiskovanci so bili anketirani o prisotnosti in trajanju morebitnih simptomov okužbe zgornjih dihal in splošnem počutju, številu in značilnostih kontaktov znotraj gospodinjstva in izven njega, obliki dela in različnih aktivnostih.

- Druga faza: longitudinalna aktivna in pasivna kohortna raziskava v skupnem trajanju 6 mesecev. Ob koncu druge faze je predviden ponoven odvzem vzorca krvi za serološko testiranje na anti-SARS-CoV-2 protitelesa za čimbolj natančno oceno kumulativne incidence okužb s SARS-CoV-2 ter oceno sprememb in trenda prekuženosti v splošni populaciji:
 - preiskovance vsake 3 tedne aktivno spremljamo s telefonskim pogovorom, ki ga opravljajo izpraševalci z ustreznim medicinskim znanjem in izkušnjami;
 - ob pojavu katerega od kliničnih simptomov in znakov okužbe dihal se s preiskovancem dogovorimo o morebitnem odvzemu brisa nosnega dela žrela in/ali krvi in ga nemudoma testiramo; to nam omogoči aktivno spremljanje širjenja okužbe s SARS-CoV-2 na verjetnostnem vzorcu prebivalcev Slovenije. Simptomatskim preiskovancem in članom

- gospodinjstva se omogoči tudi molekularno testiranje na druge povzročitelje okužb dihal ob negativnem testu na SARS-CoV-2 RNA;
- v obdobju 6 mesecev od vključitve v raziskavo preiskovanci lahko vsak dan telefonsko ali po elektronski pošti kontaktirajo koordinatorje raziskave in prosijo za testiranje na SARS-CoV-2 RNA;
 - 6 mesecev po začetku raziskave bomo preiskovancem ponovno odvzeli vzorec krvi za serološko testiranje na anti-SARS-CoV-2 protitelesa za natančno oceno prekuženosti oz. deleža populacije, ki je že prišel v stik s SARS-CoV-2 v prvih sedmih mesecih pandemije.

2.1.1 Trajanje raziskave

Čas izvajanja prve faze: 20. 04. 2020 – 03. 05. 2020.

Predviden čas trajanja druge faze: 03. 05. 2020 – 31. 10. 2020.

2.2 Opis izbire oseb, povabljenih v raziskavo

Statistično reprezentativen verjetnostni vzorec prebivalcev Slovenije glede na starost, spol in regijo bivališča s podatki o stalnem bivališču je pripravil Center za raziskovanje javnega mnenja in množičnih komunikacij Fakultete za družbene vede UL v sodelovanju s Statističnim uradom Republike Slovenije (SURs).

2.2.1 Vzorčni načrt

Vzorec raziskave o razširjenosti COVID-19 v Sloveniji je - tako kot vsi vzorci za zdravstvene, družboslovne ter uradne raziskave iz programa državne statistike v Sloveniji - temeljil na centralnem registru prebivalstva (CRP), ki ga vzdržuje Ministrstvo za notranje zadeve, za statistično uporabo pa je pristojen SURs. Slovenija ima, globalno gledano, enega najboljših tovrstnih registrov prebivalstva, zato se ocene na osnovi verjetnostnih oziroma znanstvenih vzorcev, izdelanih iz registra prebivalstva, ujemajo s populacijo – pri vnaprej znanem tveganju – prav v vseh značilnosti (ne le v socio-demografskih). Z drugimi besedami, znanstveni vzorec iz registra prebivalstva je reprezentativen za vse značilnosti oseb v populacij.

Reprezentativnost je sicer pojem, ki se razmeroma pogosto uporablja neustrezno ali pa se zlorablja. V formalnem smislu namreč reprezentativnost pomeni, da se ocena spremenljivke na vzorcu ujema z vrednostjo v populaciji z natančnostjo oziroma tveganjem, ki je znano vnaprej in se z večanjem vzorca manjša (Vehovar et al., 2016). Na tej točki govorimo seveda le o vzorčni napaki (*angl. sampling error*), ki nastaja zaradi izbiranja enot v vzorec, ne pa o morebitnih napakah v nadaljnjih procesih (npr. merske napake, neodgovori, obdelave, analize ipd.).

Vzorec za raziskavo je izdelal SURS, in sicer na stanje CRP na dan 31. 03. 2020. Odgovarjajoči vzorčni okvir je vključeval celotno populacijo, ki je na ta dan ustrezala kriterijem rezidenčne populacije v Republiki Sloveniji. Kriteriji za presojo, kdo je vključen v rezidenčno populacijo, so kompleksni. Z nekoliko poenostavitve pa bi lahko rekli, da vključuje vse osebe, ki so bile na ta dan v Sloveniji prijavljane stalno ali začasno, in se torej zanje pričakuje, da v Sloveniji tudi prebivajo. Državljanstvo pri tem ni pomembno. Vključena je bila populacija v zasebnih gospodinjstvih, kot tudi institucionalne populacije (npr. domovi za ostarele, zapori itd.), skupno je bilo v vzorčni okvir vključenih 2.114.782 oseb. To se nekoliko razlikuje od drugih uradnih ocen o številu prebivalstva, ki nekatere stalno oziroma začasno prijavljene osebe dodatno izločijo (npr. osebe, ki niso prijavljene dovolj dolgo). Tako je bilo uradno število prebivalcev na dan 01. 01. 2020 v Sloveniji nekoliko manjše, 2.095.861. Kot bomo razpravljali v nadaljevanju, pa v anketnih raziskavah problem oseb, ki dejansko niso rezidenti, rešujemo nekoliko drugače.

Dodati velja, da je zaradi visoke kakovosti registra obseg morebitne neprijavljene populacije, ki trenutno prebiva v Sloveniji, zelo majhen. Ravno tako je register zelo ažuren, saj se spremembe (npr. smrti, rojstva, selitve) na upravnih enotah praviloma vnašajo v realnem času. Če povzamemo, imajo glavno zaslugo za odličen vzorec kakovosten vzorčni okvir (CRP) ter preverjeni postopki izdelovanja vzorcev, ki jih izvaja SURS.

2.2.2 Velikost vzorca

Zaradi pričakovane zelo nizke prevalence aktivnih okužb s SARS-CoV-2 v splošni populaciji Slovenije konec aprila 2020 (ocenjeno glede na trende deleža pozitivnih na SARS-CoV-2 RNA v rutinskem testiranju v nacionalni mreži laboratorijev) je bila

najprimernejša velikost populacije za našo raziskavo izbrana predvsem za preliminarno oceno kumulativne populacijske incidence okužb s SARS-CoV-2 (prekuženosti oz. deleža oseb, ki so že prišli v stik s SARS-CoV-2 in so razvile merljivo koncentracijo anti-SARS-CoV-2 protiteles) konec aprila 2020 (prvi vzorec krvi) oz. konec oktobra 2020 (drugi vzorec krvi). Glede na to, da rutinsko serološko testiranje z zanesljivimi testi za anti-SARS-CoV-2 protitelesa v Sloveniji (enako kot v drugih evropskih državah in ZDA) konec aprila 2020 še ni bilo uvedeno in ni bilo objav o SARS-CoV-2 prekuženosti v drugih evropskih državah, pred izvedbo naše raziskave ni bilo mogoče zanesljivo sklepati o morebitni stopnji prekuženosti s SARS-CoV-2 v Sloveniji, kar bi olajšalo izbiro najustreznejše velikosti vzorca.

Velikost ($n = 3.000$) vzorca za raziskavo je bila tako določena kot ravnotežje med zahtevano natančnostjo ocen in časovnimi omejitvami, ki so se nanašali predvsem na zahtevo, da v tovrstnih populacijskih epidemioloških študijah, zajem podatkov traja načeloma le en, največ dva tedna. Pomembne so tudi omejitve človeških in drugih (predvsem finančnih) virov, ki so bili za to zahtevno nalogo na voljo (npr. zbiranje vzorcev brisa in krvi na domovih, laboratorijsko testiranje), zlasti v času pandemije COVID-19. V pogledu natančnosti ocen bi ob pričakovani odzivnosti 50 % neto realizirani vzorec $n = 1.500$ zagotovil oceno prekuženosti, če bi prevalenca (P) v populacij znašala $P = 5\%$ ali več, z natančnostjo najmanj okoli $CV = 10\%$. V praksi to pomeni, da lahko v primeru $P = 5\%$ pričakujemo, da je običajni 95 % interval zaupanja (IZ) okoli $P = 5 \pm 1\%$. Koeficient variacije (CV ; *angl. coefficient of variation*), ki ga pri tem uporabljamo, je mera relativne natančnosti in izraža razmerje ocene za standardno napako (SE ; *angl. standard error*) ter odgovarjajoče točkovne ocene proučevane ciljne spremenljivke (npr. ocene deleža prekuženosti P). V tem okviru predstavlja meja $CV = 10\%$ običajni kriterij sprejemljive natančnosti v uradnih in družboslovnih anketah. Vzorec $n = 1.500$ pa bi še vedno zagotavljal spodnjo mejo sprejemljive natančnosti ($CV = 33\%$) tudi za ocenjevanje prekuženost okoli $P = 1\%$.

V tem okviru velja osvetliti nekatere dileme morebitnega povečanje vzorca:

- treba je upoštevati okoliščine v marcu in aprilu 2020, ko so se – v svetu in pri nas – ocene in ugibanja o okuženosti in prekuženosti v populaciji gibala v izjemno širokem razponu. V takratnih razmerah je bilo zato bistveno, da smo rezultate pridobili hitro, ko se je o populacijskih razmerah - predvsem okuženosti

SARS-CoV-2 - še široko ugibalo in se je sprejemalo zelo resne odločitve, torej v daleč najbolj kritičnem obdobju. Naša ocena je torej bila, da je boljša nekoliko manj natančna informacija, ki pa je hitra in ima kljub temu dovolj veliko natančnost za vse operativne potrebe, kot pa npr. dvakrat natančnejša ocena čez en ali več mesecev, ko so vse glavne odločitve glede sproščanja ukrepov že sprejete in ukrepi sproščeni;

- kot že opisano zgoraj, je načrtovani vzorec zagotavljal oceno prekuženosti, ki za deleže 5 % in več (oziroma 1 % in več) ustreza običajnim metodološkim standardom (CV = 10 %);
- upoštevati tudi velja, da je bil osnovni cilj raziskave zagotavljanje nacionalnih ocen, ne pa regionalnih ocen ali ocen po starostnih in/ali spolnih skupinah;
- potrebno se je tudi zavedati, da se z večanjem vzorca natančnost (interval zaupanja) večja le s korenomo povečanja. Če torej vzorec podvojimo (torej bruto 6.000 in neto 3.000), se interval zaupanja zoži le za 1,4 krat. Namesto ocene, izražene v odstotkih (%) kot 5 ± 1 bi dobili oceno 5 ± 0.7 . Povečanje na 4.000 bruto oziroma 2.000 neto, kar bi opazno podražilo in tudi zavleklo raziskavo, pa bi interval zožilo le na 5 ± 0.9 . Večji vzorec in večja natančnost je seveda nadvse ugodna, še posebej, ker večje število enot poleg (sicer nekoliko reduciranega) povečanja natančnosti – linearno večja potenciale za analizo podskupin. Tako bi npr. dvakrat večji vzorec najverjetneje omogočil analize po spolu že aprila 2020, še bolj natančno pa oktobra 2020. Vendar pa večje povečanje vzorca v konkretnem primeru naše raziskave zaradi vrste okoliščin ne bi odtehtalo s tem povezanih težav. V primeru podvojenega vzorca namreč zaradi kompleksne terensko-laboratorijske izvedbe odgovarjajoči stroški ter organizacijske, tehnične in druge težave narastejo več kot za dvakrat. V še večji meri velja to za napore (npr. usposabljanje ekip, podporni administrativni procesi), ki so potrebni za zagotavljanje visoke kakovosti zbranih podatkov. Preveliko hitenje s tako veliko in kompleksno raziskavo bi se lahko slabo končalo, da o časovnem zamiku rezultatov ne govorimo;
- za populacijske epidemiološke raziskave večjega obsega so potrebni meseci in včasih leta skrbnih priprav, zlasti v majhni državi kot je Slovenija. Da je tako, lahko potrdimo že za primer Evropske družboslovne raziskave (ESS), ki jo izvajamo na Fakulteti za družbene vede UL. Podobno velja za obsežne verjetnostne ankete na več deset tisoč enotah, ki jih izvaja SURS ali Nacionalni

inštitut za javno zdravje (NIJZ). Vse navedeno še posebej velja za obsežnejše epidemiološke raziskave, ki temeljijo na longitudinalnem spremljanju oseb (večkratnem anketiranju v daljšem obdobju) (RIVM, 2020). Še enkrat velja tudi ponoviti, da pred našo raziskavo tovrstne raziskave okuženosti in prekuženosti s SARS-CoV-2 na verjetnostnem vzorcu celotne države niso izvedli še v nobeni državi.

Če povzamemo, je bil po mnenju vodilnih raziskovalcev naše raziskave vzorec za vse ključne potrebe dovolj velik, zato je bilo bolje, da se je raziskava izvedla hitro, v času največjih dilem glede sproščanja omejitev, kot pa kasneje, čez mesec ali dva, ko bi sicer lahko pripravili večjo in bolj natančno raziskavo.

2.2.3 Struktura vzorca

V pogledu strukture vzorca, je bilo glede na naravo raziskave (zbiranje vzorcev in anket na domovih sodelujočih) smiselno uporabiti uveljavljeno prakso dvostopenjskega vzorčenja, ki optimizira stroške in natančnost (Kalton in Vehovar, 2001). Na prvi stopnji je bilo zato izbranih 300 enot prve stopnje (PSU; *angl. primary sampling unit*), za kar so bile uporabljene vzorčne enote (SURS, 2001) (gre za okoliše z do nekaj sto osebami), s katerimi SURS operira za potrebe vzorčenja. Izbor PSU je bil narejen z verjetnostjo, sorazmerno velikosti vzorčnih enot (PPS; *angl. probability proportional to size*). Pri tem se je na prvi stopnji upoštevalo predhodno implicitno stratifikacijo (sistematičen izbor PSU na osnovi predhodnega sortiranega seznama PSU) na osnovi 12 statističnih regij in 6 tipov naselij, znotraj katerih so bila naselja dodatno sortirana po velikost. Tip naselja je definiran z naslednjimi 6 kategorijami: kmečka do 2.000 prebivalcev, nekmečka do 2.000 prebivalcev, naselja z 2.000 do 10.000 prebivalcev, naselja z 10.000 do 100.000 prebivalcev, ter kot ločeni kategoriji posebej še Ljubljana in Maribor.

Na drugi stopnji je bilo znotraj vsake izbrane vzorčne enote (PSU), po postopku sistematičnega naključnega izbora izbrano fiksno število 10 oseb, kar je število, za katerega izkušnje kažejo, da je primerno pri proučevanju pojavov, kjer pričakujemo določeno gostitev oziroma podobnost enot. Za COVID-19 smo namreč ocenjevali, da se spremenljivka prekuženosti obnaša podobno kot mnenjske spremenljivke. Gre za pojav, da so si osebe znotraj okolišev glede določenih značilnosti bolj ali manj

podobne. Delež variance določenega pojava, ki jo pojasnjuje pripadnost okolišu, se označuje in računa z intraklasno korelacijo (ρ_h). Posedovanje kablanskega priključka je ekstremen primer, ko imajo praktično vse osebe v okolišu enako vrednost ($\rho_h = 1$), spol pa je na drugi strani primer spremenljivke, katere delež (okoli 50 %) je v vseh okoliših praktično enak in je torej neodvisen od okoliša ($\rho_h = 0$). Mnenja oziroma stališča imajo intraklasno korelacijo običajno med 0,01 in 0,05 (kar se je nato v naši raziskavi potrdilo tudi za prekuženost s SARS-CoV-2) in za tovrstne spremenljivke v terenskih anketah izračuni kažejo, da je primerno izbrati bruto 10 enot oziroma neto okoli 5 enot na okoliš.

Vzorčni načrt zagotavlja, da imajo vsi rezidenti Republike Slovenije enako verjetnost za vključitev v vzorec, in sicer 0,142 % ($3.000/2.114.782$), saj je bila velikost izhodiščnega (bruto) vzorca $n = 3.000$ ($300 \text{ PSU} \times 10 \text{ oseb}$). Takšna struktura ima na pričakovano natančnost ocen, v primerjavi z enostavnim slučajnim vzorcem, kjer bi bilo 3.000 oseb razpršenih po celi Sloveniji, sicer določen negativen učinek, močno pa pripomore k nižanju stroškov in izvedljivosti v kratkem času, kar je bilo za tip raziskave kot je naša nujno. Na osnovi navedenih parametrov je vzorec - v skladu z Zakonom o državni statistiki in drugim predpisi izdelal SURS, pri čemer je kot že natančno opisano zgoraj uporabil preverjene standardizirane postopke (SURS, 2017).

Naključno izbrani preiskovanci so bili kontaktirani po pošti, predstavljen jim je bil namen raziskave in zaprošeni so bili za sodelovanje. Spremeni dopis in anonimni vprašalnik, ki sta bila preiskovancem poslana po pošti, sta priložena temu poročilu kot priloga 1 in priloga 2. Preiskovanci so lahko svoje sodelovanje potrdili neposredno po elektronski pošti ali s klicem na telefonsko številko v okviru vzpostavljenega klicnega centra. V nadaljevanju raziskave so vsi preiskovanci, ki so pristali na sodelovanje, prejeli nadaljnje informacije o času in kraju odvzema brisa nosnega dela žrela in vzorca krvi.

Pred odvzemom kliničnih vzorcev so vsi preiskovanci podpisali Izjavo o zavestni in svobodni privolitvi (priloga 3), s katero so potrdili ustrezno obrazložitev namena raziskave in podali prostovoljni pristanek na sodelovanje v raziskavi. V primeru mladoletne osebe smo za pisno soglasje prosili odgovornega starša oziroma skrbnika. V primeru mladoletne osebe, stare 15 let ali več, smo za soglasje prosili tako preiskovanca kot njegovega starša oziroma skrbnika. Sodelovanje v raziskavi je bilo

le prostovoljno z možnostjo zavrnitve brez pojasnil ali posledic za preiskovanca kadarkoli v času raziskave. Preiskovanci so podpisali tudi Izjavo o zavestni in svobodni privolitvi, eno so skupaj s Pojasnilom o raziskavi (priloga 4) obdržali za svojo evidenco, drugi izvod pa hranimo na IMI MF UL.

Vsi podatki v centralni bazi podatkov so vodeni in obdelani pod dodeljenim identifikatorjem (šifro). Varovanje osebnih podatkov je zagotovljeno skladno s Splošno uredbo o varstvu podatkov (GDPR, *General Data Protection Regulation*). V namene dodatne zaščite podatkov je baza z administrativnimi podatki (npr. ime, starost, naslov) ločena od baze s podatki o anamnezi in rezultati testiranj (več o tem v podpoglavju 2.9 Razvoj aplikacije in informacijska podpora).

Pred začetkom raziskave smo za izvedbo raziskave pridobili odobritev Komisije Republike Slovenije za medicinsko etiko (št. odobritve 0120-199/2020/19 z dnem 17. 04. 2020).

2.3 Merila za vključitev, nevključitev, izključitev v/iz raziskave

Merila za vključitev: pisno soglasje, s katerim so preiskovanci potrdili ustrezno obrazložitev namena študije in svoj pristanek na sodelovanje v raziskavi.

Merila za nevključitev/izključitev: zavrnitev sodelovanja v raziskavi, nepravilno označen klinični vzorec ali spremni list, neoznačen klinični vzorec ali spremni list.

2.4 Klicni center

Za potrebe raziskave smo v obdobju od 20. 04. 2020 – 30. 04. 2020 s podjetjem Episcenter vzpostavili brezplačno telefonsko številko 080 3008, kamor so preiskovanci lahko sporočili svojo odločitev glede sodelovanja v raziskavi ali dobili dodatne informacije o raziskavi, če so imeli pomisleke. Izbrane preiskovance, ki so imeli javno dostopno telefonsko številko v telefonskem imeniku, je klicni center tudi aktivno poklical in jih obvestil o raziskavi, ki je potekala ter zabeležil odgovor na sodelovanje.

2.5 Zbiranje kliničnih vzorcev

2.5.1 Odvzem brisa zgornjih dihal in vzorca krvi

Kot primeren vzorec zgornjih dihal se upošteva bris nosnega dela žrela ali kombinirani bris ustnega in nosnega dela žrela odvzet v ustrezno transportno gojišče.

Kot primeren vzorec krvi se upošteva ustrezna količina polne krvi (3-5 ml), odvzeta iz periferne vene v epruveto za vakuumski odvzem z EDTA ali v epruveto za vakuumski odvzem brez antikoagulant.

Potem ko je preiskovanec pristal na sodelovanje v raziskavi, je ustrezno usposobljen zdravstveni delavec, uslužbenec NMP Pacient d.o.o., na dogovorjeni dan preiskovanca obiskal na domu, se identificiral, preveril pravilnost osebnih podatkov preiskovanca, pridobil pisno soglasje preiskovanca za sodelovanje v raziskavi in ob strogem upoštevanju vseh preventivnih ukrepov (uporaba ustrezne osebne varovalne opreme glede na anamnezo in epidemiološko situacijo) odvzel bris nosnega dela žrela in ga opremil z ustreznim identifikatorjem (šifra preiskovanca). Nato je odvzel vzorec krvi, ga prav tako opremil z ustreznim identifikatorjem (šifra preiskovanca) in spremni list opremil z ustreznimi podatki o preiskovancu ter dnevom in uro odvzema (standardni postopek pri odvzemu vseh kliničnih kužnin, ki so sprejete in obdelane na IMI MF UL v okviru diagnostične dejavnosti).

Ob ponovitvi vzorčenja čez 6 mesecev (ob koncu druge faze raziskave) bo ob upoštevanju vseh preventivnih ukrepov ustrezno usposobljen zdravstveni delavec odvzel samo vzorec krvi in ustrezno opremil tako vzorec kot spremni list.

2.5.2 Transport kliničnih vzorcev

Vsi odvzeti klinični vzorci so ustrezno zaščiteni in zapakirani v transportnem sistemu (dvojno pakiranje) z upoštevanjem standardnih ukrepov za preprečevanje razlitja in kontaminacije. Med transportom so vzorci shranjeni pri 4°C in v istem dnevu (<24 h) dostavljeni na IMI MF UL, skupaj s spremnim listom.

2.5.3 Zbiranje podatkov o kliničnih simptomih in znakih ter kontaktih preiskovancev

Dodatne klinične in epidemiološke informacije o prisotnosti in trajanju morebitnih simptomov okužb zgornjih dihal in splošnem počutju preiskovancev, številu in značilnostih kontaktov znotraj gospodinjstva in izven njega, obliki dela in različnih aktivnostih, smo pridobili z anketiranjem preiskovancev po priloženem vprašalniku (priloga 1). Tudi ti podatki so v centralno bazo podatkov vneseni pod identifikatorjem (šifro) preiskovancev na IMI MF UL.

2.6 Testiranje kliničnih vzorcev

Vsi vzorci so bili obdelani in testirani na IMI MF UL po standardnih protokolih, ki veljajo za mikrobiološko diagnostično dejavnost. Vsak vzorec je bil vpisan v laboratorijski informacijski sistem in mu je bila dodeljena neponovljiva laboratorijska protokolna številka. Od tega trenutka dalje do izdaje rezultata so vsi postopki obdelave vzorca potekali izključno pod laboratorijsko protokolno številko.

2.6.1 Testiranje brisov nosnega dela žrela na prisotnost SARS-CoV-2 RNA

Testiranje brisov nosnega dela žrela na prisotnost virusa SARS-CoV-2 z neposrednim dokazovanjem nukleinske kisline (RNA) SARS-CoV-2 z metodo verižne reakcije s polimerazo z reverzno transkripcijo (RT-PCR, *angl. reverse-transcription polymerase chain reaction*) v realnem času je trenutno zlati standard za neposredno dokazovanje oseb aktivno okuženih s SARS-CoV-2.

Marca in aprila 2020 je bilo na evropskem trgu na voljo le nekaj komercialnih testov za dokazovanje prisotnosti SARS-CoV-2 RNA, še manj od teh pa je bilo prepričljivo klinično validiranih in avtomatiziranih. Dodatno težavo je predstavljala tudi dobava reagentov in potrošnega laboratorijskega materiala v Slovenijo predvsem v prvem delu pandemije, kar je bila posledica strogih omejevalnih ukrepov za zajezitev širjenja okužb ter posledičnega globalnega pomanjkanja osnovnih kemikalij za izdelavo testov zaradi prekinitve proizvodnje ali transportnih poti. Pomanjkanje reagentov in potrošnega laboratorijskega materiala je bilo na evropskem trgu (in v Sloveniji) največje prav v času izvajanja naše raziskave.

IMI MF UL je že konec januarja 2020 uvedel testiranje na SARS-CoV-2 RNA s kombinacijo ročnega in polavtomatskega diagnostičnega postopka, ki temelji na dvotarčni komercialni mešanici RT-PCR začetnih oligonukleotidov in sond LightMix Modular SARS and Wuhan CoV E-gene kit (Tib-Molbol, Berlin, Nemčija) in ga je za tovrstno diagnostiko od februarja 2020 priporočala Svetovna zdravstvena organizacija (Corman et al., 2020). Čeprav odličen in zanesljiv se je navedeni diagnostični postopek pokazal za manj primerne, ko je število prejetih vzorcev preseгло 300 na dan. Zato je bilo nujno poiskati alternativno čimbolj avtomatizirano diagnostično rešitev. V tem času je bila edina takšna alternativna možnost (glede na dobavljivost reagentov v zadostni količini za rutinsko delo) popolnoma nov avtomatizirani test cobas SARS-CoV-2 Test (Roche Diagnostics, Alameda, Kalifornija, ZDA). Tako smo konec marca 2020 na IMI MF UL pred uvedbo v rutinsko diagnostiko izvedli natančno klinično evalvacijo testa cobas SARS-CoV-2 Test in sicer s primerjavo z do tedaj standardnim diagnostičnim postopkom, ki temelji na uporabi LightMix RT-PCR mešanic (Poljak in Korva et al., 2020). Primerjava je bila opravljena na dobro definiranim retrospektivnem respiratornem panelu 217 brisov zgornjih dihal in 502 prospektivno odvzetih brisov zgornjih dihal posameznikov, ki so bili 25. in 26. 03. 2020 poslani na rutinsko testiranje na SARS-CoV-2 RNA. Respiratorni panel, s katerim smo želeli preveriti občutljivost in specifičnost testa cobas SARS-CoV-2, je vključeval 64 brisov predhodno pozitivnih na SARS-CoV-2, 17 vzorcev pozitivnih na druge koronavirus, 14 vzorcev pozitivnih na rinovirus, 9 vzorcev pozitivnih na respiratorni sincicijski virus (RSV), 8 vzorcev pozitivnih na človeški metapneumovirus, 8 vzorcev pozitivnih na virus influence B, 6 vzorcev pozitivnih na virus influence A in 1 vzorec pozitiven na parehovirus. Štirje vzorci so bili pozitivni na vsaj dva respiratorna virusa, preostalih 86 vzorcev pa je bilo negativnih na vse testirane respiratorne viruse. Testa sta izkazala 98,1 % ujemanje pri testiranju retrospektivnega respiratornega panela (211/215; 95 % CI, 95,0–99,4 %) in 99,6 % ujemanje pri prospektivni primerjavi bolnikov (499/501; 95 % CI, 98,4–99,9 %). Oba prospektivno vzeta brisa z neujemajočimi rezultati sta bila cobas SARS-CoV-2 pravilno pozitivna. Glede na rezultate raziskave smo cobas SARS-CoV-2 test 27. 03. 2020 začeli na IMI MF UL uporabljati kot primarni test za dokazovanje SARS-CoV-2 RNA. Test je 12. 03. 2020 po hitrem postopku odobrila tudi ameriška zvezna Uprava za hrano in zdravila (FDA). Po naši evalvaciji testa cobas SARS-CoV-2 in njeni objavi (Poljak in Korva et al., 2020), ki je bila v svetovnem merilu prva objavljena evalvacija tega diagnostičnega testa, je bilo v recenzirani znanstveni literaturi objavljenih še nekaj

neodvisnih raziskav (Basu et al., 2020; Cradic et al. 2020; Broder et al., 2020; Pujadas et al. 2020; Moran et al., 2020), ki dodatno potrjujejo izjemno zanesljivost testa cobas SARS-CoV-2, ki postaja zlati standard v molekularni diagnostiki SARS-CoV-2.

Zaradi dobrih izkušenj smo se odločili tudi v naši nacionalni raziskavi za testiranje brisov nosnega dela žrela na prisotnost virusa SARS-CoV-2 uporabiti test cobas SARS-CoV-2. Test smo izvedli po navodilih proizvajalca. Spodaj je na kratko opisan postopek testiranja.

Vsi brisi nosnega dela žrela se takoj po prihodu v laboratorij prenesejo v zaščitno komoro, ki z zračnim tokom in stekleno pregrado ščiti laboratorijskega delavca. V zaščitni komori se vzorci odprejo in pripravijo za nadaljnjo delo. Bris se vorteksira 1 minuto pri najvišji hitrosti nato se celotna vsebina transportnega gojišča z brisom prelije v t.i. primarno tubico, ki je označena s črtno kodo laboratorijske protokolne številke vzorca. Pred izvedbo testa se pripravi nalepke s protokolnimi številkami, s katerimi se označi t.i sekundarne tubice. Vzorci se pred nadaljnjim postopkom centrifugirajo 1 min pri 8.000 vrtljajih/minuto (rpm; *angl. round per minute*), nato se 650 µL vzorca v zaščitni komori prepipetira iz primarnih v sekundarne tubice. Sekundarne tubice postavimo v posebna stojala, ki jih nato postavimo v za to namenjen del sistema za testiranje (modul za oskrbo z vzorci) cobas 6800.

Brisi nosnega dela žrela se testirajo na prisotnost virusa SARS-CoV-2 s testom cobas SARS-CoV-2 Test. Za dokazovanje prisotnosti virusa SARS-CoV-2 se pri omenjenem testu uporabljata dve tarčni zaporedji: ORF1, del zaporedja v genomu, ki je značilen samo za SARS-CoV-2 (tarčno zaporedje 1) in visoko ohranjeno zaporedje beljakovine E virusne ovojnice, ki je prisoten tudi pri ostalih koronavirusih (tarčno zaporedje 2). Uspešnost postopka osamitve in RT-PCR pomnoževanja se pri vsaki reakciji preverja z uporabo RNA interne kontrole. V reakcijsko mešanico diagnostičnega testa za dokazovanje SARS-CoV-2 je dodana tudi uracil-N-glikozilaza, encim, ki učinkovito preprečuje kontaminacijo s PCR pridelki generiranimi z uracilom. Testiranje vzorca v povprečju traja 3 ure. Hkrati se lahko testira 94 vzorcev ter negativna in pozitivna kontrola testa, s katerimi preverjamo uspešno izvedbo testa.

Test cobas SARS-CoV-2 Test se izvaja na avtomatiziranem sistemu cobas 6800 ali cobas 8800. V Laboratoriju za molekularno mikrobiologijo in diagnostiko hepatitisov in aidsa na IMI MF UL je za potrebe rutinske molekularne diagnostike postavljen sistem

cobas 6800. Ta avtomatiziran sistem je sestavljen iz naslednjih modulov: modul za oskrbo z vzorci, modul za prenos, modul za procesiranje in analitični modul. Na slednjem poteka tudi analiza podatkov, ki vsakemu vzorcu pripiše rezultat, ki ga lahko vidimo na aparaturi, shranimo kot poročilo ali ga aparatura prenese v laboratorijski informacijski sistem. Glede na navodila proizvajalca smo vzorce, pri katerih je bilo zaznано pomnoževanje tako tarčnih zaporedij 1 in 2 (ORF1 in gena E) ali samo pomnoževanje tarčnega zaporedja 1 (ORF1), opredelili kot pozitivne na SARS-CoV-2 RNA. Vzorce, kjer pomnoževanja ni bilo zaznati, smo opredelili kot SARS-CoV-2 RNA negativne.

2.6.2 Testiranje vzorcev krvi na prisotnost protiteles proti SARS-CoV-2

Podobno kot pri molekularnih testih za dokazovanje SARS-CoV-2 RNA je bilo marca in aprila 2020 na evropskem trgu dostopnih relativno malo diagnostičnih testov, ki bi omogočali dokazovanje prisotnosti protiteles proti SARS-CoV-2 (anti-SARS-CoV-2) in še za tiste, ki so bili dostopni, v recenzirani znanstveni literaturi ni bilo objavljenih raziskav o njihovi kakovosti in zanesljivosti. Podobno kot pri molekularnih testih je bilo, zaradi globalnega pomanjkanja osnovnih kemikalij za izdelavo testov zaradi prekinitve proizvodnje ali transportnih poti, največje pomanjkanje reagentov in potrošnega laboratorijskega materiala za izvajanje seroloških testov na evropskem trgu (in Sloveniji) prav v času izvajanja naše nacionalne raziskave. Reagentov in potrošnega materiala zanesljivih proizvajalcev laboratorijskih testov ni bilo mogoče dobiti v zadovoljivem času niti iz držav Evropske unije, kaj šele iz ZDA. Istočasno je bil evropski trg preplavljen s številnimi anti-SARS-CoV-2 serološkimi testi večinoma popolnoma neznanih proizvajalcev, potencialno zelo vprašljive kakovosti in brez raziskav o njihovi kakovosti in zanesljivosti objavljenih v recenzirani znanstveni literaturi.

Kljub vsem dvomom o kvaliteti anti-SARS-CoV-2 seroloških testov smo marca in aprila 2020 raziskovalci na IMI MF UL veliko večino ponujenih seroloških testov klinično evalvirali po večstopenjskem postopku: od začetnega najbolj enostavnega kliničnega panela do bolj zahtevnih panelov za tiste teste, ki so prestali začetno evalvacijo. Od vseh anti-SARS-CoV-2 seroloških testov, ki so bili na razpolago za evalvacijo v Sloveniji in je zanje obstajala realna možnost dobave zadostnih količin za testiranje večjega števila vzorcev, se je kot najboljši kandidat po začetni evalvaciji izkazal

komercialni diagnostični komplet Anti-SARS-CoV-2 ELISA IgG (Euroimmun, Lübeck, Nemčija). Ker je bilo sredi aprila 2020 na voljo le izjemno omejeno število diagnostičnih kompletov tega testa, smo za interno evalvacijo testa Anti-SARS-CoV-2 ELISA IgG pred uporabo v nacionalni raziskavi izbrali za oceno klinične občutljivosti testa le omejen nabor vzorcev bolnikov z molekularno potrjeno okužbo s SARS-CoV-2, ter za oceno klinične specifičnosti testa vzorce bolnikov z drugimi okužbami, ki lahko navzkrižno reagirajo s SARS-CoV-2 antigenom ter vzorcev bolnikov, ki so jim vzeli kri zaradi različnih razlogov pred junijem 2019, ko virusa SARS-CoV-2 zagotovo ni bilo v populaciji. V evalvacijo smo tako skupno vključili 40 vzorcev bolnikov s COVID-19 (od 1. do 32. dneva po prvi molekularni potrditvi okužbe) (razpredelnica 1), 72 vzorcev bolnikov z drugimi virusnimi in bakterijskimi okužbami ter 120 vzorcev bolnikov, ki so jim vzeli kri zaradi različnih medicinskih razlogov pred junijem 2019 (razpredelnica 2).

Razpredelnica 1: *Interna evalvacija klinične občutljivosti komercialnega testa Euroimmun Anti-SARS-CoV-2 ELISA IgG na vzorcih bolnikov z molekularno potrjeno okužbo z SARS-CoV-2.*

Dan bolezni	n	Euroimmun Anti-SARS-CoV-2 ELISA IgG			Občutljivost
		Pozitivno	Mejno	Negativno	
<5	22	3	1	18	13,6 %
5 – 10	7	6	1	1	85,7 %
>10	11	11	0	0	100,0 %

Razpredelnica 2: Interna evalvacija klinične specifičnosti komercialnega testa Euroimmun Anti-SARS-CoV-2 ELISA IgG.

Panel	n	Pozitivno	Specifičnost
Akutna okužba z virusom človeške citomegalije (CMV) ali virusom Epstein-Barr (EBV)	22	0	100 %
Mikoplazemska pljučnica	15	0	100 %
Oslovski kašelj	7	0	100 %
Okužbe z drugimi respiratornimi virusi (človeški koronavirusi, virusi influence, respiratorni sincicijski virus, rinovirusi)	28	0	100 %
Vzorci bolnikov, ki so jim vzeli kri zaradi različnih medicinskih razlogov pred junijem 2019, ko virusa SARS-CoV-2 zagotovo ni bilo v populaciji	120	0	100 %

Kot je prikazano v razpredelnicah 1 in 2, smo z interno evalvacijo komercialnega diagnostičnega testa Anti-SARS-CoV-2 ELISA IgG ugotovili, da ima le-ta na testnem panelu 100 % analitično specifičnost, saj nismo dokazali nobene navzkrižne reaktivnosti pri testiranju vzorcev bolnikov z drugimi virusnimi in bakterijskimi okužbami ter na panelu vzorcev bolnikov, ki so jim vzeli kri zaradi različnih medicinskih razlogov pred junijem 2019, ko virusa SARS-CoV-2 zagotovo ni bilo v populaciji. Pri interni evalvaciji analitične občutljivosti testa smo ugotovili, da je občutljivost povezana z dnevom bolezni. Pri vzorcih, ki so bili odvzeti 5 do 10 dni po molekularnem dokazu okužbe, smo specifična protitelesa ugotovili pri 85,7 % bolnikov; medtem ko smo pri vzorcih, ki so bili odvzeti več kot 10 dni po začetku bolezni dokazali specifična protitelesa pri vseh 11 bolnikih.

V času izvedbe nacionalne raziskave, razen navedene interne evalvacije, v recenzirani znanstveni literaturi ni bilo objavljene nobene klinične evalvacije testa Anti-SARS-CoV-2 ELISA IgG in nobenih primerjalnih ocen različnih komercialnih seroloških testov za dokazovanje anti-SARS-CoV-2 protiteles, ki so bili takrat na evropskem trgu. Proizvajalec testa Anti-SARS-CoV-2 ELISA IgG, ki je evalviral svoj test na podoben

način kot naš laboratorij, je poročal o naslednji klinični občutljivosti testa (evalvirana na skupno 71 vzorcih bolnikov z molekularno potrjeno okužbo s SARS-CoV-2): pri vzorcih, ki so bili odvzeti do 10 dni po molekularnem dokazu okužbe so specifična protitelesa ugotovili pri 22,4 % bolnikov; pri vzorcih, ki so bili odvzeti med 10 in 20 dni po začetku bolezni pri 87,5 % bolnikov in pri vzorcih, ki so bili odvzeti več kot 21 dni po začetku bolezni so dokazali specifična protitelesa pri vseh 5 bolnikih (navodila proizvajalca z dne 29. 04. 2020). Klinična specifičnost testa, ki jo je določil proizvajalec na skupaj 1.241 vzorcih odvzetih bolnikom z drugimi virusnimi okužbami, bolnikov z revmatoidnim faktorjem ter osebam, ki so jim vzeli kri v času ko virusa SARS-CoV-2 zagotovo ni bilo v populaciji, je znašala 99.6 % (navodila proizvajalca z dne 29. 04. 2020). Po končani prvi fazi nacionalne raziskave in predstavitvi preliminarnih rezultatov na začetku maja 2020, je bilo do 15. 06. 2020 (izračun za Preliminarno poročilo - različica 1.0) v recenzirani znanstveni literaturi objavljeno večje število evalvacij testa Anti-SARS-CoV-2 ELISA IgG, ki so podrobno opisane v poglavju 3.3.2. Test Anti-SARS-CoV-2 ELISA IgG je 05. 05. 2020 za diagnostično uporabo odobrila ameriška FDA. Od 15. 06. 2020 (Preliminarno poročilo - različica 1.0) do konca avgusta 2020 (Preliminarno poročilo - različica 2.0) je bilo v recenzirani znanstveni literaturi objavljeno še nekaj evalvacij testa Anti-SARS-CoV-2 ELISA IgG, ki pa niso bistveno vplivale na oceno specifičnosti testa in posledično na interval ocene prekuženosti konec aprila 2020, zato smo se raziskovalci odločili, da bomo končne ocene prekuženosti konec aprila 2020 in konec oktobra 2020, podali v končnem poročilu nacionalne raziskave, ki bo predvidoma objavljeno konec novembra 2020. Pri tem bomo ponovno in čimbolj kritično re-evalvirali vse podatke proizvajalca testa, rezultate internih evalvacij testa ter rezultate raziskav objavljenih v recenzirani znanstveni literaturi o ocenah specifičnosti testa anti-SARS-CoV-2 IgG.

Za oceno prekuženosti konec aprila 2020 smo anti-SARS-CoV-2 protitelesa razreda IgG v naši raziskavi določali s testom Anti-SARS-CoV-2 ELISA IgG po navodilih proizvajalca. Test temelji na indirektni encimskoimunski metodi na trdnem nosilcu (ELISA), oziroma na specifični interakciji med virusnim antigenom, ki je vezan na trden nosilec (polistirenska mikrotitrna ploščica z vdolbinicami) in specifičnimi protivirusnimi protitelesi v serumu preiskovanca. Pri testu Anti-SARS-CoV-2 ELISA IgG se kot antigen uporablja podenota S1 rekombinantnega proteina jedrne ovojnice (N) oz. »spike« protein, ki naj bi bil najbolj specifičen za SARS-CoV-2. Po navodilih

proizvajalca se serumi preiskovancev pred izvedbo testa redčijo v pufri za redčenje v razmerju 1:101. Pred vnosom v vdolbinice na mikrotitrskih ploščah se razredčene vzorce dobro premeša in v vdolbinico A1 doda po 100 μ L kalibratorja, v B1 100 μ L pozitivne kontrole, v C1 100 μ L negativne kontrole in v vse naslednje vdolbinice po 100 μ L redčenih vzorcev. Po tem principu se lahko hkrati testira 93 vzorcev, pri čemer test v povprečju traja 3 ure. V nadaljevanju se vzorce inkubira 60 minut pri 37°C (\pm 1°C). Po inkubaciji se vse vdolbinice po trikrat izpere s po 450 μ L pufra za izpiranje z aparaturo za avtomatsko spiranje BioTek ELx50 (BioTek, Winooski, Virginija, ZDA). Po spiranju se v vse vdolbinice doda 100 μ L encimskega konjugata in inkubira 30 minut pri 37°C (\pm 1°C). Po inkubaciji se ponovi postopek izpiranja. Nato se doda še 100 μ L substrata in ploščice ponovno inkubira 30 minut pri sobni temperaturi. Encimsko reakcijo se ustavi z dodatkom 100 μ L raztopine za ustavitev reakcije, merjenje absorbance se izvede s spektrofotometričnim čitalcem mikrotitrskih ploščic Magellan (Tecan, Maennedorf, Švica), pri čemer se absorbanca meri pri valovni dolžini 450 nm in 620 nm (referenčni filter).

Za končen rezultat se po meritvi za vsak vzorec opredeli njegovo vrednost tako, da se absorbanca kalibratorja deli z absorbanco vzorca. Da izvid opredelimo kot pozitiven na prisotnost anti-SARS-CoV-2 protiteles razreda IgG, mora biti vrednost, ki smo jo izračunali, višja ali enaka 1,1. Kadar je izračunana vrednost manjša kot 0,8, vzorec opredelimo kot negativen na prisotnost anti-SARS-CoV-2 protiteles razreda IgG. Vzorce z vrednostmi med 0,8 in 1,1 po navodilu proizvajalca prav tako opredelimo kot negativne.

2.6.3 Izvidi in sporočanje rezultatov

Za vse rezultate testiranja na SARS-CoV-2 smo na IMI MF UL izdali uradni izvid, ki smo ga preiskovancem poslali po pošti. V centralno bazo podatkov, ki jo vodijo sodelavci Laboratorija za bioinformatiko Fakultete za računalništvo in informatiko UL, so bili rezultati vpisani pod identifikatorji (šiframi) preiskovancev.

V primeru novo dokazane aktivne okužbe s SARS-CoV-2 v brisu nosnega dela žrela je IMI MF UL o izvidu nemudoma obvestil tako samega preiskovanca kot tudi ustrezno epidemiološko službo, ki je postopala po svojih strokovnih protokolih in navodilih. V

samo podatkovno bazo je pozitiven izvid vpisan le pod šifro in tako za namen obdelave podatkov niso vidni osebni podatki preiskovancev.

V primeru pozitivnega rezultata na prisotnost anti-SARS-CoV-2 protiteles razreda IgG in ob negativnem rezultatu testiranja na SARS-CoV-2 RNA iz brisa nosnega dela žrela smo preiskovanca o rezultatu obvestili po pošti, z vključeno natančno pisno obrazložitvijo rezultata ter možnostjo dodatnega telefonskega pojasnila rezultatov.

2.7 Longitudinalna aktivna in pasivna kohortna raziskava

V obdobju 6 mesecev po vključitvi v raziskavo vsem preiskovancem omogočamo aktivno in pasivno spremljanje zdravstvenega stanja in počutja s periodičnim (tritedenskim) preverjanjem pojava kliničnih simptomov in znakov, značilnih za okužbo s SARS-CoV-2 po telefonu (vprašalnik ob sledenju – priloga 5). Če ob spremljanju preiskovancev ugotovimo, da so se pri katerem med njimi in/ali članu gospodinjstva pojavili klinični simptomi in znaki, značilni za okužbo s SARS-CoV-2, ali to preiskovanec aktivno javi, mu po protokolu raziskave ponovno odvzamemo bris nosnega dela žrela in po potrebi tudi vzorec krvi ter ga/jih testiramo v najkrajšem možnem času. V primeru klinično izrazitejše simptomatike preiskovancu svetujemo tudi ustrezno zdravniško obravnavo ter pomagamo pri takojšnjem dostopu do testiranja na SARS-CoV-2 RNA oz. anti-SARS-CoV-2 protitelesa.

2.8 Statistična obdelava podatkov

Prevalenco aktivne SARS-CoV-2 okužbe (okuženost) in kumulativno incidenco oz. delež populacije, ki je prišel v stik s SARS-CoV-2 (prekuženost) – s statističnega vidika med njima ni potrebno razlikovati – smo ocenili na tri različne načine. Prvi predpostavlja enostavni slučajen vzorec (*angl. simple random sample*), z drugim in tretjim pa smo preverili vpliva nepopolne specifičnosti uporabljenega diagnostičnega pristopa in pristranskosti zaradi nepopolnega odziva. Analize smo naredili v programskem okolju R.

Pri statistični analizi smo ubrali bayesovski pristop. Čeprav bi lahko tudi s klasičnim pristopom prišli do podobnih rezultatov, smo se odločili za bayesovsko ogrodje, ki omogoča preprostejše upoštevanje predhodnih informacij, še posebej, ko le-te

vsebujejo negotovost (kot je npr. specifičnost testa), in s tem olajša pripravo primernih statističnih modelov. Obenem interpretacija bayesovskih intervalov preprostejša od interpretacije klasičnih intervalov zaupanja, kjer je interval slučajna spremenljivka.

Bayesovski pristop ima tudi svojo ceno, predvsem v večji računski zahtevnosti in obveznosti, da opredelimo svoje predhodno (apriorno; *angl. prior*) mnenje o parametrih naših statističnih modelov. V tej analizi računski zahtevnost ni predstavljala ovire, saj smo z uporabo sodobnih vzorčevalnikov iz modelov vzorčili dovolj uspešno in dovolj učinkovito, da napaka aproksimacije ni vplivala na interpretacijo. Apriorno mnenje pa je bilo relativno enostavno določiti, saj so imeli uporabljeni modeli zelo malo parametrov.

Za razliko od klasičnih pristopov pri bayesovski statistiki ne ocenjujemo vrednosti parametrov, temveč posodabljammo naše apriorno mnenje o njih na podlagi podatkov in izbranega modela. Interpretacija rezultatov bayesovske analize poteka preko t.i. aposteriorne porazdelitve (*angl. posterior distribution, posterior*) parametrov oz., nekoliko poenostavljeno, našega verjetnostnega mnenja o parametrih, ko smo videli podatke. V rezultatih bomo poročali predvsem povzetke aposteriorne porazdelitve parametrov, ki nas zanimajo. Uporabljali bomo aposteriorno upanje (upanje oz. pričakovana vrednost aposteriorne porazdelitve; *angl. posterior mean*), ki povzema centralno tendenco parametra, 95% bayesovski interval zaupanja (CI; *angl. bayesian confidence interval, credible interval*), vedno v smislu intervala med 2.5 in 97.5 percentiloma, ter 95% območje največje gostote (HDR; *angl. highest density region*). Razlog za vključitev HDR leži v tem, da je 95% intervalov zaupanja v večini primerov poljubno mnogo. Izbrani interval zaupanja, ki temelji na percentilih, je v večini primerov primeren povzetek, v primeru močno nesimetričnih porazdelitev pa ne. Povzetek HDR pa je enolično določen in jasno povzame območje, kjer je verjetnost/gostota največja. V primeru večmodalnih aposteriornih porazdelitev HDR sicer ni nujno interval, a v naših rezultatih s takšnimi porazdelitvami ne bomo imeli opravka.

Interpretacija bayesovskih intervalov, npr. 95% CI ali 95% HDR je relativno preprosta: prava vrednost parametra leži v intervalu z 95% verjetnostjo.

2.8.1 Enostavni slučajni vzorec

Ob predpostavki, da imamo enostavni slučajni vzorec in da v meritvah prevalenke ni napak, se lahko omejimo na dva podatka: velikost vzorca (n) in število pozitivnih primerov (y). Prevalenco modeliramo z binomsko porazdelitvijo, kjer je edini parameter prevalenca:

$$y \sim \text{Binomial}(n, \theta)$$

Za apriorno porazdelitev prevalenke smo izbrali porazdelitev beta

$$\theta \sim \text{Beta}(a_0, b_0)$$

ki je konjugirana in nam da preprosto aposteriorno porazdelitev prevalenke:

$$\theta | y \sim \text{Beta}(a_0 + y, b_0 + n - y).$$

V vseh primerih rezultatov smo uporabili neinformativno (Jeffreysovo) aposteriorno porazdelitev $a_0 = 0,5$, $b_0 = 0,5$. Na tem mestu lahko razpravljamo, če bi bilo bolj smiselno uporabiti bolj informativno apriorno porazdelitev, ki bi temeljila na strokovnem znanju in podatkih iz drugih držav. Za neinformativno apriorno porazdelitev smo se odločili, saj menimo, da zmanjšanje negotovosti ne bi odtehtalo morebitne pristranskosti, ki bi jo s tem vnesli v raziskavo.

2.8.2 Popravek za specifičnost in občutljivost

Napake v testiranju lahko pripeljejo do večjih napak pri oceni prevalenke, še posebej, če je prevalenca zelo nizka ali zelo visoka. Naš model za preprost slučajni vzorec bomo sedaj razširili z upoštevanjem možnosti, da občutljivost in specifičnost testa nista 100 %.

Najprej poleg prevalenke v podatkih vpeljemo še dejansko prevalenco θ_{true} . Torej, θ ocenjuje delež pozitivnih testov, θ_{true} pa delež okuženih, ki nas pravzaprav zanima. Prevalenci sta povezani z enačbo

$$\theta = w_{sens}\theta_{true} + (1 - w_{spec})(1 - \theta_{true})$$

kjer sta w_{sens} in w_{spec} občutljivost in specifičnost testa (deleža pravilno izmerjenih pozitivnih in negativnih primerov). Občutljivost in specifičnost sta med 0 in 1. V primeru, ko sta 1, sta prevalenca v podatkih in dejanska prevalenca enaka.

Model za preprost slučajen vzorec lahko sedaj razširimo v model, ki upošteva občutljivost in specifičnost:

$$y \sim \text{Binomial}\left(n, w_{sens}\theta_{true} + (1 - w_{spec})(1 - \theta_{true})\right)$$
$$\theta \sim \text{Beta}(a_0, b_0)$$

Specifičnost w_{spec} smo obravnavali kot parameter, saj je glede njene vrednosti nekaj negotovosti. Tako je bila npr. po podatkih, ki so bili na voljo konec aprila 2020, specifičnost testa za dokazovanje anti-SARS-CoV-2 protiteles razreda IgG po navodilih proizvajalca testa približno 99,6 %, kar temelji na 1.367 preizkusih in 5 lažno pozitivnih rezultatih. Smiselno apriorno mnenje o specifičnosti je torej

$$w_{sens} \sim \text{Beta}(1362, 5).$$

Čeprav bi lahko tudi občutljivost w_{sens} obravnavali kot parameter, smo jo obravnavali kot konstanto, ki jo določi uporabnik, saj je v našem primeru občutljivost kombinacije obeh diagnostičnih testov 100 %. Pri testu prevalence okuženosti je tudi specifičnost uporabljenega testa za določanje SARS-CoV-2 RNA 100 %, zato popravek za občutljivost in specifičnost ni bil potreben za oceno prevalence aktivno okuženih s SARS-CoV-2.

Aposteriorna porazdelitev parametrov θ_{true} in w_{sens} pri tem modelu in izbiri apriornih porazdelitev ni standardna porazdelitev, zato smo se poslužili aproksimacije z MCMC (Markov Chain Monte Carlo; metoda Monte Carlo z markovskimi verigami). Natančneje, model smo implementirali v programskem jeziku Stan (Stan Development Team, 2019) in uporabili privzet vzorčevalnik.

Model v programskem jeziku Stan:

```
data {
  int<lower = 1> n;
  int<lower = 0> y;
  real<lower = 0, upper = 1> sens_true;
  int<lower = 0> spec_tp;
  int<lower = 0> spec_fp;
}

parameters {
  real<lower = 0, upper = 1> p;
  real<lower = 0, upper = 1> spec_true;
```

```
}  
model {  
  spec_true ~ beta(spec_tp, spec_fp);  
  p ~ beta(0.5, 0.5);  
  y ~ binomial(n, sens_true * p + (1 - spec_true) * (1 - p));  
}
```

Pri MCMC smo uporabili 1.000 iteracij za samodejno nastavljanje parametrov vzorčevalnika in 1 milijon iteracij vzorčenja, kar je bilo dovolj, da so vse napake MCMC manjše od decimalnih mest, ki smo jih uporabili pri poročanju rezultatov.

V obdobju po preliminarni analizi rezultatov v prvem tednu maja 2020 je bilo v recenzirani znanstveni literaturi objavljenih več raziskav, ki so (bolj ali manj natančno) evalvirale specifičnost uporabljenega testa za dokazovanje anti-SARS-CoV-2 protiteles razreda IgG (glej poglavje 3.3.2). Te nove informacije smo pri ponovni oceni prekuženosti z dne 15. 06. 2020 upoštevali tako, da smo združili vse vzorce in vse lažno pozitivne ter uporabili zgornji model. Ta pristop predpostavlja, da so rezultati različnih raziskav med seboj neodvisni in da vse raziskave merijo specifičnost, ki nas zanima. Prva predpostavka je še smiselna, saj raziskave temeljijo na različnih vzorcih, druga predpostavka pa ne, saj se študije razlikujejo glede na populacijo, na katero merijo specifičnost, in glede na sam postopek merjenja (in dodatne merske napake). Da ta predpostavka verjetno ne drži, govorijo tudi sami podatki. Razlike med rezultati nekaterih raziskav, npr. raziskavo proizvajalca testa in štirimi raziskavami, katerih aposteriorni intervali se ne prekrivajo z intervalom iz podatkov proizvajalca testa, so tako velike, da je skoraj nemogoče, da bi bile zgolj posledica vzorčenja.

Med rezultati različnih raziskav, ki so evalvirale specifičnost uporabljenega testa za dokazovanje anti-SARS-CoV-2 protiteles razreda IgG in so bile objavljene v recenzirani znanstveni literaturi v obdobju po prvotni preliminarni analizi rezultatov v prvem tednu maja 2020 so torej razlike, ki jih ne znamo pojasniti. Čeprav jih ne moremo pojasniti, pa jih lahko upoštevamo pri oceni specifičnosti testa. Pripravili smo model, ki hkrati oceni specifičnost in prevalenco. Del za oceno prevalence je enak kot prej:

$$y \sim \text{Binomial}(n, w_{sens}\theta_{true} + (1 - w_{spec})(1 - \theta_{true}))$$

$$\theta_{true} \sim \text{Beta}(a_0, b_0)$$

Namesto znanih konstant za apriorno porazdelitev za w_{spec} pa sedaj uporabimo parametra a in b:

$$w_{spec} \sim Beta(a, b).$$

Nato predpostavimo, da so deleži pravilno negativno klasificiranih vzorcev (specifičnosti) posameznih študij w_i tudi iz te porazdelitve:

$$w_i \sim Beta(a, b).$$

Na ta način trdimo, da so si specifičnosti, ki jih ocenjujejo raziskave, podobne, a ne nujno enake, zaradi napak, ki jih bomo upoštevali, a jih ne bomo poskušali pojasniti. Večja razpršenost specifičnosti bo pomenila večjo negotovost v to, kje je prava specifičnost.

Preostane nam samo še, da specifičnost raziskave povežemo s podatki te raziskave, velikostjo vzorca n_i in številom pravilno klasificiranih pozitivnih y_i :

$$y_i \sim Binomial(n_i, w_i).$$

Z besedami: iz podatkov raziskav ocenimo porazdelitev specifičnosti, iz porazdelitev specifičnosti ocenimo porazdelitev specifičnosti, le-ta pa se upošteva pri oceni porazdelitve prevalence.

Aposteriorna porazdelitev parametrov pri tem modelu ni standardna porazdelitev, zato smo se spet poslužili aproksimacije z MCMC. Model v programskem jeziku Stan:

```
data {
  int<lower = 1> n_prev;
  int<lower = 0> y_prev;
  int<lower = 1> m;
  int<lower = 0> n[m];
  int<lower = 0> y[m];
  real<lower = 0, upper = 1> sens_true;
}

parameters {
  real<lower = 0> a;
  real<lower = 0> b;
  real<lower = 0, upper = 1> p;
  real<lower = 0, upper = 1> w[m];
  real<lower = 0, upper = 1> spec_true;
}

model {
  for (i in 1:m) {
    y[i] ~ binomial(n[i], w[i]);
  }

  w ~ beta(a, b);
  spec_true ~ beta(a, b);
  p ~ beta(0.5, 0.5);
  y_prev ~ binomial(n_prev, sens_true * p + (1 - spec_true) * (1 - p));
}
```


Pri MCMC smo uporabili 1.000 iteracij za samodejno nastavljanje parametrov vzorčevalnika in 100.000 iteracij vzorčenja, kar je bilo dovolj, da so vse napake MCMC manjše od decimalnih mest, ki smo jih uporabili pri poročanju rezultatov.

2.8.3 Popravek za neodziv

Predpostavka enostavnega slučajnega vzorca ni realna, saj je bilo v naši raziskavi zaradi praktične izvedljivosti uporabljeno stratificirano dvo-stopenjsko vzorčenje. Poleg tega se niso vsi udeleženci odzvali, kar predstavlja potencialen vir pristranskosti. Te probleme lahko vsaj delno naslovimo tako, da oceno prevalence dopolnimo s podatki, ki so nam na voljo - spolom, letnico rojstva (kategorizirano po desetletjih, pri čemer vsi starejši od 90 let predstavljajo eno kategorijo), tipom naselja in regijo.

V prvem koraku smo modelirali odvisnost med dodatnimi podatki in prevalenco. V drugem koraku smo z modelom iz prvega koraka napovedali prevalenco za vsak stratum in nato napovedi utežili z velikostmi stratumov. Ta pristop lahko uvrstimo v družino pristopov MRP (*angl. Multilevel Regression with Poststratification*).

Za modeliranje prevalences smo uporabili logistično regresijo (binomski posplošeni linearni model s povezovalno funkcijo logit). Kot neodvisne spremenljivke smo uporabili spol ter interakcije (vse kombinacije) med spolom in letnico rojstva. Letnico rojstva, tip naselja in regijo pa smo modelirali hierarhično (kot t.i. slučajne učinke) ter na ta način omilili morebitne težave zaradi premajhnega števila vzorcev v določeni kategoriji.

Za sklepanje iz modela smo ponovno uporabili MCMC. Uporabili smo paket rstanarm, ki že vsebuje potrebno implementacijo bayesovskih hierarhičnih posplošenih linearnih modelov (stan_glmer). Uporabili smo privzete apriorne porazdelitve. Pri MCMC smo uporabili 1.000 iteracij za samodejno nastavljanje parametrov vzorčevalnika in 100.000 iteracij vzorčenja, kar je bilo dovolj, da so vse napake MCMC manjše od decimalnih mest, ki smo jih uporabili pri poročanju rezultatov.

2.9 Razvoj aplikacije in informacijska podpora

Na Fakulteti za računalništvo in informatiko UL se je sredi aprila 2020 v Laboratoriju za bioinformatiko oblikovala močna razvojna ekipa, ki je vzpostavila informacijsko

infrastrukturo za izvedbo raziskave. Glavni del razvoja je bila vzpostavitev podatkovne baze, kamor se zapisujejo podatki o sodelujočih in rezultati laboratorijskih preiskav. Ker je pri tovrstni raziskavi ključna zaščita osebnih podatkov in varnost kliničnih rezultatov, se je bazo oblikovalo po principu "varnost na prvem mestu". To pomeni, da so podatki enkriptirani, da ima baza vzpostavljene varnostne kopije, dostop do podatkov pa je omogočen le z dvostopenjsko avtentikacijo. Dostop do baze je tudi z avtentikacijo možen le preko spletnega vmesnika. Razvito bazo podatkov je tekom raziskave – z različnimi nivoji dovoljenega vpogleda – uporabljalo skoraj petdeset sodelavcev, ki vključujejo koordinatorje raziskave, laboratorij, klicni center in sodelavce, ki so na terenu pridobivali vzorce. Osnovno statistiko poteka raziskave je lahko javnost v realnem času spremljala na pričujočih spletnih straneh.

Poleg razvoja podatkovne baze so razvojni inženirji na Fakulteti za računalništvo in informatiko UL pomagali tudi ekipam z obdelavo in vnosom odgovorov iz vprašalnikov. Vsak sodelujoči v raziskavi namreč izpolni dvostranski vprašalnik o simptomih, simptomih družinskih članov, vrsti dela, ki ga opravlja, tipu interakcije s sodelavci in podobno. V raziskavi smo ročno izpolnjene vprašalnike prečitali s čitalcem, na Fakulteti za računalništvo in informatiko UL pa smo razvili program za avtomatično prepoznavo izpolnjenih vprašalnikov. Pri tem smo uporabili nekatere moderne tehnike umetne inteligence. Za preverjanje avtomatsko razbranih podatkov smo razvili pregledovalnik vprašalnikov, kjer se na levem delu okna izpiše spletni obrazec z vprašalnikov, na desnem delu pa kopija skeniranega vprašalnika. Pregled vprašalnikov je na ta način veliko hitrejši. S strojno obdelavo vprašalnikov smo privarčevali na času, ki bi bil sicer potreben za ročni vnos in na ta način bistveno hitreje izvedli potrebne analize.

Baze podatkov in aplikacije so bile shranjene na varnih strežnikih Fakultete za računalništvo in informatiko UL. Zaradi izjemnega pomena teh podatkov za Republiko Slovenijo je bilo poskrbljeno tudi za sprotno izdelavo varnostnih kopij in shranjevanje kopij na ločenih lokacijah.

Ekipa programerjev in inženirjev računalništva s Fakultete za računalništvo in informatiko UL je za razvoj baze podatkov in spletne aplikacije za podporo zbiranja podatkov vložila skoraj tisoč ur dela (razpredelnica 3). Spletna aplikacija je bila za prve vnose nared po praktično v enem tednu. Programerski maraton, ki je vodil k brezhibno

delujoči programski podpora projekta, je potekal tudi med vikendi in prazniki (razpredelnica 3).

Razpredelnica 3: V prvih dveh tednih, takoj po sprejetju vabila k sodelovanju na projektu, je ekipa programerjev in inženirjev računalništva s Fakultete za računalništvo in informatiko UL za razvoj baze podatkov in spletne aplikacije za podporo zbiranja podatkov vložila skoraj tisoč ur dela. Spletna aplikacija je bila za prve vnose nared po praktično v enem tednu. Programerski maraton, ki je vodil k brezhibno delujoči programski podpori projekta, je potekal tudi med vikendi in prazniki.

Datum	Dan	Komentar	Ur
10.04.2020	petek	prvi sestanek razvojne ekipe	48
11.04.2020	sobota	oblikovanje zahtev uporabnikov	52
12.04.2020	nedelja	velika noč	59
13.04.2020	ponedeljek	velikonočni ponedeljek	65
14.04.2020	torek		68
15.04.2020	sreda	delujoči prototip baze	91
16.04.2020	četrtek		98
17.04.2020	petek	delujoči spletni vmesniki	100
18.04.2020	sobota	vnos sodelujočih	75
19.04.2020	nedelja	testiranje prve različice	51
20.04.2020	ponedeljek	uporaba na terenu	46
21.04.2020	torek	nadgradnje z laboratorijskim delom	53
22.04.2020	sreda	analiza vprašalnikov	50
23.04.2020	četrtek		67
24.04.2020	petek		42
			965

Na slikah 1 do 7 podajamo nekaj slikovnih izrisov sicer obsežnejšega spletnega vmesnika aplikacije razvite za potrebe raziskave. Vsi podatki na teh izrisih so izmišljeni.

COVID-19 Slovenija admin_ Odjava

Seznam oseb | 3000

Prikaži samo

Prikaži oseb na stran Iskanje

Zap. št.	Ime	Rojen	Naslov	Kraj	Pošta	Tel. št.	Status	Izjava	Spremlj. list	Kri	Bris	Vprašalnik	Sledenje	Odgovori	Aktivni klici	Zadnji kontakt(dni)
3000	Hlebš Janez	1947	SELA 1E	Bukovski Vrh	1241		Prekinil sodelovanje (28.05.20 20:20)	Ne	Ne	Ne	Ne	<input type="button" value="Prazen"/>		1	0	42
2999	Veberič Maja	1983	ŠEROVO 125	Batuje	3240		Prekinil sodelovanje (28.05.20 20:20)	Ne	Da	Ne	Ne	<input type="button" value="Prazen"/>		2	0	25
2998	Pančur Josip	1956	GRABE 1B	Bohova	2277		Sodeluje (17.05.20 17:17)	Ne	Ne	Ne	Ne	<input type="button" value="Prazen"/>	<input type="button" value="Sledenje"/>	1	0	25
2997	Karinger Janez	1990	NOVO 1A	Ciglence	2311		Sodeluje (17.05.20 18:18)	Ne	Ne	Ne	Ne	<input type="button" value="Prazen"/>	<input type="button" value="Sledenje"/>	1	0	25
2996	Egartner Marko	1963	LIVOLD 178	Adrijanci	1330		Neznan	Ne	Ne	Ne	Ne	<input type="button" value="Prazen"/>		0	0	
2995	Karel Stanka	1980	SPODNJI 111	Cirkušje v Tuhinju	1281		Neznan	Ne	Ne	Ne	Ne	<input type="button" value="Prazen"/>		0	0	
2994	Žerovnik Karel	1957	PAMEČE 1A	Nasovče	2380		Neznan	Ne	Ne	Ne	Ne	<input type="button" value="Prazen"/>		0	0	
2993	Stegovec Zoran	1953	DORNICE 18	Nimno	1217		Neznan	Ne	Ne	Ne	Ne	<input type="button" value="Prazen"/>		0	0	
2992	Toman Štefan	1960	DOLNJE 130	Ilirska Bistrica	8283		Neznan	Ne	Ne	Ne	Ne	<input type="button" value="Prazen"/>		0	0	
2991	Cedlinik Jurij	1994	AJŠEVICA 137	Bukovica	5000		Neznan	Ne	Ne	Ne	Ne	<input type="button" value="Prazen"/>		0	0	

Prejšnja ... Naslednja

Slika 1. Pregledovalnik seznama oseb, ki je na voljo administratorju projekta. Poleg osebnih podatkov je viden status sodelovanja (kolona Status) in podatki o sledenju osebe v drugi fazi projekta (zadnje tri kolone). Administrator lahko iz tega okna pregleduje vprašalnik in vnaša oziroma pregleduje podatke o sledenju. (Podatki so izmišljeni.)

COVID-19 Slovenija

👤 nmp 🔄 Odjava

Petrič Borut
Rojen/a: 1949
Zaporedna številka: 1764

Izjava podpisana
 Spremni list izpolnjen
 Vzorec krvi odvzet
 Bris odvzet
 Anketa oddana

Slika 2. Vpisno okno za vnos informacij o obisku pri sodelujočem pri raziskavi. Aplikacijo so na mobilnih napravah (telefonih) so uporabljali sodelavci na terenu, podatki pa so se v trenutku vpisa prenesli na bazo podatkov o raziskavi, tako da je bilo možno sproti slediti statistikam o uspešnosti zbiranja podatkov. (Podatki so izmišljeni.)

COVID-19 Slovenija

👤 izvidi_ 🔄 Odjava

Rezultati | 2

Prikaži samo

Prikaži oseb na stran Iskanje

	📄 Priimek in ime	📄 Rojen	📄 PCR vnešen	📄 IgG vnešen	📄 IgA vnešen
<input type="button" value="Neg"/>	Stegovec Zoran	1953	Da	Da	Da
<input type="button" value="Neg"/>	Pančur Josip	1956	Ne	Ne	Ne

COVID-19 Slovenija

👤 izvidi_ 🔄 Odjava

Stegovec Zoran
Rojen/a: 1953

PCR*

Pozitiven
 Negativen

E gen

Orf

Serološki IgG*

Pozitiven
 Negativen

IgG vrednost

Serološki IgA*

Pozitiven
 Negativen

IgA vrednost

Slika 3. Pregledovalnik oseb z laboratorijskimi rezultati (levo) in obrazec za vnos laboratorijskih rezultatov (desno). (Podatki so izmišljeni.)

COVID-19 Slovenija vprašalnik_ Odjava

FFBE90
 Seja poteče v 04:20

Pošilca:
 Naznan
 Predšolski otrok
 Šolski otrok
 Študent
 Delovno aktivna oseba
 Upokojenec
 Gospodinja
 Kmet

Današnji datum (iz ankete): _____

ZDRAVSTVENO STANJE
 1. Ali ste opazili/občutili katerega izmed naslednjih kliničnih znakov ali simptomov? v zadnjih 2 tednih v zadnjih 2 mesecih

Vročina:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Mrzlica:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Bolečine v mišicah:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Boleče žrelo:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kašelj:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Izcedek iz nosa:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Občutek oteženega dihanja:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Bolečina v prsnem košu:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Izguba vonjava/okusa:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Glavobol:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Slabost ali bruhanje:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Bolečine v trebuhu:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Driska (tekoče odvajanje blata večkrat dnevno):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

2. Ali ste zaradi katerega od navedenih simptomov ali znakov poiskali zdravniško pomoč? DA NE
 3. Ali ste bili zaradi katerega od navedenih simptomov ali znakov hospitalizirani? DA NE

DEMOGRAFSKI PODATKI IN PODATKI O TESNIH STIKIH Z DRUGIMI OSEBAMI
 1. Ali živite sami? DA NE

2. Če ne, koliko ljudi živi v skupnem gospodinjstvu poleg vas? _____
 Koliko ljudi v skupnem gospodinjstvu je mlajših od 12 let? _____
 Koliko ljudi v skupnem gospodinjstvu je starih med 12 in 17 let? _____
 Koliko ljudi v skupnem gospodinjstvu je starih med 18 in 70 let? _____
 Koliko ljudi v skupnem gospodinjstvu je starih od 70 let? _____

3. Ste bili pred razglasitvijo epidemije zaposleni – označite spodaj:
 zaposlen za polni delovni čas
 zaposlen za skrajšan delovni čas
 samozaposlen
 honorarno zaposlen
 nezaposlen

4. Označite, v kateri sektor spada vaša delodajalca:
 zdravstvo in socialno varstvo
 kmetištvo ali gozdarstvo
 kultura in umetnost
 nepremičnine
 oskrba z elektriko, vodo, plinom
 tehnična popravila, gospodinjstva dela
 zasebne storitve
 industrija
 drugo
 transport
 gospodarstvo
 trgovina
 izobraževanje
 turizem ali hotelištvo
 gradbeništvo
 javna uprava
 finančni sektor

5. V kakšni obliki poteka vaše delo med epidemijo, če ste zaposleni in delovno aktivni?
 hodim v službo
 delam od doma
 sem na daljavo
 varstvo otroka
 drugo

6. Če hodite v službo, ali ste na delovnem mestu obkroženi z drugimi ljudmi? DA NE

7. Če hodite v službo in imate predšolske otroke/otroke do 12. leta starosti, kako je organizirano njihovo varstvo?
 doma, samo z ljudmi v skupnem gospodinjstvu
 s pomočjo babic ali dedkov
 s pomočjo prijateljev in znancev
 s pomočjo vrstev in kol
 doma, skupaj z otroki iz drugih gospodinjstev
 s pomočjo tet ali stricov
 z občinski pomočjo
 drugo

8. Ali je kdo od ljudi v skupnem gospodinjstvu v zadnjih dveh mesecih opazil/občutil katerega izmed naslednjih kliničnih znakov ali simptomov?

Vročina:	otroci do 12 let		osebe med 12-17 let		osebe med 18-70 let		osebe starejše od 70 let	
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kašelj:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Boleče žrelo:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Bolečine v mišicah (mialgija):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Glavobol:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Občutek oteženega dihanja:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Driska (tekoče odvajanje blata večkrat dnevno):	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

9. Ali lahko ocenite s koliko ljudmi, ki ne živijo z vami v skupnem gospodinjstvu, ste bili v tesnem/hipotesnem stiku v zadnjih 2 tednih?
 0 1-2 3-6 7-15 16-30 31-60 več kot 60

10. Ali ste bili v zadnjih 2 mesecih v tesnem/hipotesnem stiku s kom, ki je bil dokazano pozitiven na SARS-CoV-2?
 DA NE

11. Ali ste bili v zadnjih 2 tednih v kateri od zdravstvenih ustanov v Sloveniji? DA NE

12. Ali ste bili v zadnjih 2 mesecih v kateri od zdravstvenih ustanov v Sloveniji? DA NE

13. Kako težko vam je dosledno spoštovati vse ukrepe, ki naj bi zajeli Slovenj koronavirusa? (1 – zelo težko, 5 – zelo lahko)
 1 2 3 4 5 ne vem

Najprejšnja hvala za sodelovanje!

2

Prekliči Shrani Shrani in prikaži naslednji nepregledan vprašalnik

Slika 4. Vmesnik za pregledovanje rezultatov strojnega branja ročno izpolnjenih vprašalnikov. Na levi strani so rezultati branja, na desni pa slika ročno izpolnjenega vprašalnika. Na primeru so vidne nekatere napake pri branju, ki pa jih v dejanskih primerih praktično ni bilo. Sistem je bil razvit za namene vizualne primerjave originala vprašalnika in prebranih podatkov, ki je potekala dovolj hitro, da smo lahko ročno pregledali vse vprašalnike. (Podatki so izmišljeni.)

Nacionalna raziskava o razširjenosti COVID-19 v Sloveniji
Preliminarno poročilo (verzija 2.0, z dne 08. 09. 2020)

COVID-19 Slovenija vprašalnik_ Odjava

Vprašalniki | 3000

👤 - Vprašalnik trenutno ureja nekdo drug.
👤 - Vprašalnik trenutno urejate vi.
Ob shranjevanju sprememb oz. maksimalno petih minutah se 🔄 sprosti.

Prikaži 10 anket na stran Iskanje

Šifra	Pregledano
FFBE90	Da
FFBABE	Ne
FFB744	Ne
FF9CB9	Ne
FF8DBE	Ne
FF86FB	Ne
FF6C55	Ne
FF5E34	Ne
FF386F	Ne
FF001F	Ne

Prejšnja 1 2 3 4 5 ... 300 Naslednja

Slika 5. Vmesnik namenjen članom projektne skupine, ki so pregledovali podatke iz vprašalnikov in je služil dodeljevanju nalog pregledovalcem.

COVID-19 Slovenija

Pančur Josip (1956)
Telefon:

Kontaktiran/a: Nekontaktiran

1. Ali ste **V ZADNJIH DVEH TEDNIH** opazili/občutili katerega izmed naslednjih kliničnih znakov ali simptomov:

	DA	NE
Vročina:	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Mrzlica:	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Bolečine v mišicah:	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Boleče žrelo:	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Kašelj:	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Izcedek iz nosa:	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Občutek oteženega dihanja:	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Bolečina v prsnem košu:	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Izguba vonja/okusa:	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Glavobol:	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Slabost ali bruhanje:	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Bolečine v trebuhu:	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Driska (tekoče odvajanje blata večkrat dnevno):	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Drugo:	<input type="text"/>	

2. Ali ste zaradi katerega od navedenih simptomov ali znakov poiskali zdravniško pomoč? DA NE

3. Ali ste bili zaradi katerega od navedenih simptomov ali znakov hospitalizirani? DA NE

4. Ali je kdo od ljudi v skupnem gospodinjstvu **V ZADNJIH DVEH TEDNIH** opazili/občutili katerega izmed zgoraj naštetih kliničnih znakov ali simptomov:
 DA NE

Opombe:

Shrani Shrani, prikaži naslednjo osebo
Se ne javi Se ne javi, prikaži naslednjo osebo
Prekliči

Slika 6. Del vmesnika za vnos podatkov o sledenju sodelujočih v raziskavi, ki poteka v drugi fazi projekta. (Podatki so izmišljeni.)



Slika 7. Okno administratorja projekta, ki omogoča dostop do funkcij za upravljanje pravic dostopa do različnih tipov podatkov, pregledovanje in vnos podatkov ter izvoz podatkov v datoteke, namenjene statistični obdelavi rezultatov.

3. REZULTATI

3.1 Reprezentativnost vzorca

Vzorčni okvir je omogočil vključitev podatkov o spolu, starosti, regiji in tipu naselja za vseh 3.000 enot, ki so bile vključene v vzorec. Spodnje razpredelnice primerjajo odgovarjajočo strukturo respondentov ($n = 1.368$) (vzorec) s populacijsko strukturo (populacija). Izkaže se, da so odstopanja razmeroma majhna. Edino večje odstopanje je v starosti skupini do 10 let, kjer so starši oz. skrbniki v nekoliko večjem obsegu odklonili sodelovanje svojih otrok v anketi. Namesto tega je bilo sodelovanje nadpovprečno visoko predvsem v skupini od 51 do 60 let. V ostalih starostnih skupinah ni izrazitejših statistično značilnih razlik. Natančna stopnja značilnosti p pri preverjanju razlike vzorčne ocene s populacijskim parametrom je povsod večja od $p > 0,01$. Obstajajo sicer določena odstopanja ($0,01 < p < 0,05$) tudi v skupini 61-70 let (nekoliko boljši odziv) oziroma 21-30 let (nekoliko slabši odziv). Vsa navedena odstopanja v starostni strukturi pa so povsem v skladu z izkušnjami drugih nacionalnih raziskav.

Razpredelnica 4. Naključno izbrani preiskovanci, ki so bili povabljeni k sodelovanju glede na spol po statusu sodelovanja.

	Vzorec	Populacija
	n (%)	n (%)
N	1.368	3.000
Spol		
Moški	665 (48,6 %)	1.545 (51,5 %)
Ženski	703 (51,4 %)	1.455 (48,5 %)

Razpredelnica 5. Primerjava starostne strukture sodelujočih ($n = 1.368$) s populacijsko strukturo.

STAROST	Vzorec (%)	Populacija (%)
0-10	7,3	11,0
11-20	9,1	9,4
21-30	8,9	10,8
31-40	13,3	14,1
41-50	14,8	14,6
51-60	18,3	14,3
61-70	15,5	13,0
71-80	8,6	8,0
81+	4,2	4,8
Skupaj	100,0	100,0

$\chi^2 = 46,65$ ($p = 0,000$)

Razpredelnica 6. Primerjava strukture sodelujočih ($n = 1.368$) s populacijsko strukturo glede na regijo.

REGIJA	Vzorec (%)	Populacija (%)
Pomurska	6,0	5,5
Podravska	13,8	15,5
Koroška	3,5	3,4
Savinjska	11,5	12,4
Zasavska	2,8	2,7
Spodnjeposavska	3,1	3,6
Jugovzhodna	7,0	6,9
Osrednjeslovenska	28,0	26,3
Gorenjska	11,3	9,9
Primorsko-Notranjska	2,2	2,5
Goriška	5,8	5,7
Obalno-Kraška	5,1	5,6
SKUPAJ	100,0	100,0

$\chi^2 = 11,00$ ($p = 0,44$)

Razpredelnica 7. Primerjava strukture sodelujočih ($n = 1.368$) s populacijsko strukturo glede na spol.

SPOL	Vzorec (%)	Populacija (%)
Moški	48,6	50,3
Ženski	51,4	49,7
Skupaj	100,0	100,0

$\chi^2 = 1,53$ ($p = 0,216$)

Razpredelnica 8. Primerjava strukture sodelujočih ($n = 1.368$) s populacijsko strukturo glede na tip naselja.

TIP NASELJA	Vzorec (%)	Populacija (%)
Nekmečka naselja < 2.000 oseb	31,6	28,8
Kmečka naselja < 2.000 oseb	22,3	23,2
Naselja od 2.000-10.000 oseb	17,5	17,1
Ljubljana	13,8	13,5
Naselja > 10.000 oseb	11,4	13,0
Maribor	3,2	4,5
Skupaj	100,0	100,0

$\chi^2=12,21$ ($p=0.03$)

Kot je razvidno iz razpredelnic 6 in 7, se v pogledu regije in spola porazdelitvi vzorca in populacije statistično značilno ne razlikujeta ($p>0,5$). Do določenega odstopanja prihaja pri tipu naselja (razpredelnica 8), predvsem v kategoriji manjših nekmečkih naselij, kjer je bilo sodelovanje nekoliko večje, vendar ne ekstremno, nadpovprečno ($p=0,011$).

3.2 Poročilo klicnega centra

V obdobju od 20. 04. 2020 – 30. 04. 2020 je izbrani klicni center Episcenter sprejel 1.277 klicev preiskovancev in izvedel več kot 3.171 odhodnih klicev. Podrobno poročilo o opravljenih klicih za telefonsko številko 080 3008 je predstavljeno v razpredelnici 9.

Razpredelnica 9. Poročilo klicnega centra Episcenter o opravljenih klicih za telefonsko številko 080 3008 v obdobju 20. 04. 2020 – 30. 04. 2020.

POROČILO OPRAVLJENIH KLICEV ZA TELEFONSKO ŠTEVILKO	080 3008
Obdobje 20.4.2020 - 30.4.2020	

Število vseh klicev	Dohodni klici	Odhodni klici	Skupaj
	1277	3171	4448

Klici po dnevih

Datum	Dohodni klici	Odhodni klici	Skupaj
20.04.2020	491	137	628
21.04.2020	264	663	927
22.04.2020	166	790	956
23.04.2020	104	536	640
24.04.2020	128	324	452
25.04.2020	17	141	158
26.04.2020	11	139	150
27.04.2020	9	0	9
28.04.2020	40	266	306
29.04.2020	30	175	205
30.04.2020	17	0	17

Statistika statusov

<u>Sodeluje</u> (potrdil sodelovanje preko KC ali maila)	1368
<u>Ne želi sodelovati</u> (sodelovanje zavrnil preko KC ali maila)	838
Brez kontakta	654
<u>Oseba ni dosegljiva</u> (preklic najmanj 3x)	140

3.3 Poročilo terenskega dela

Ustrezno usposobljeni zdravstveni delavci, uslužbenci NMP Pacient d.o.o., terenski sodelavci IMI MF UL in medicinske sestre iz pediatričnih oddelkov UKC Ljubljana so v 12 dneh med 20. 04. 2020 in 01. 05. 2020 opravili 84 enot reševalnih prevozov, prevozili skupno 24.950 km in samo za odvzeme vzorcev porabili več kot 2.000 delavnih ur (razpredelnica 10).

Razpredelnica 10. Poročilo NMP Pacient d.o.o. o opravljenem terenskem delu v obdobju med 20. 04. 2020 in 01. 05. 2020.

	Število	Število	Število	Število
	prevoženih	opravljenih	terenskih	vklučenih
	km	ur	sodelavcev	preiskovancev
20. 04. 2020	92	10,42	4	19
21. 04. 2020	2.989	121,83	20	189
22. 04. 2020	2.265	113,83	20	195
23. 04. 2020	3.043	124,25	22	219
24. 04. 2020	2.854	118,67	22	218
25. 04. 2020	3.361	119,25	22	197
26. 04. 2020	3.347	102,33	24	143
27. 04. 2020	1.759	42,67	11	43
28. 04. 2020	1.078	31,25	7	29
29. 04. 2020	788	20,75	6	30
30. 04. 2020	1.922	46,92	9	51
01. 05. 2020	1.452	35,67	10	35
Skupaj	24.950	887,83	179	1.368

3.4 Ocena okuženosti oz. populacijske prevalence aktivnih okužb s SARS-CoV-2 konec aprila 2020 v Sloveniji

Ocena okuženosti oz. populacijske prevalence aktivnih okužb s SARS-CoV-2 konec aprila 2020 v Sloveniji je bila najpomembnejši in praktično najuporabnejši cilj prvega dela nacionalne raziskave. Informacija o prevalenci aktivne okužbe s SARS-CoV-2 v splošni populaciji konec aprila 2020, pridobljena v naši raziskavi je bila v veliko pomoč odločevalcem pri sprejemanju ustreznih odločitev o tem, kdaj lahko začnemo z nadzorovanim kratkoročnim in dolgoročnim rahljanjem ukrepov, uvedenih z namenom omejevanja epidemije okužb s SARS-CoV-2, postopnim odpiranjem trgovin, šol, podjetij in ponovnim zagonom gospodarstva.

Vsi intervali, ki jih poročamo, temeljijo na percentilih aposteriorne porazdelitve (2,5 % in 97,5 %).

Pri 1.366 osebah smo opravili molekularno testiranje brisa nosnega dela žrela na prisotnost SARS-CoV-2 RNA. Dva preiskovanca sta bila pozitivna. Vzorčno povprečje okuženih je 0,15 % ($n = 1.363$; aposteriorno upanje = 0,18 %; 95 % CI = [0,03–0,47 %]; 95 % HDR = [0,01–0,41 %]). Popravek za specifičnost ni bil potreben, saj je ta pri uporabljenem testu za dokazovanje prisotnosti SARS-CoV-2 RNA ocenjen na 100%. Aposteriorno upanje prevalence po MRP (popravek za neodziv, glej Statistična obdelava podatkov – Popravek za neodziv) je 0,15 % (95 % CI = [0,02–0,44%]; 95 % HDR = [0,01–0,37 %]).

3.5 Preliminarna ocena prekuženosti oz. deleža populacije, ki je že prišel v stik s SARS-CoV-2 v Sloveniji do konca aprila 2020

Preliminarna ocena prekuženosti oz. deleža populacije, ki je že prišel v stik s SARS-CoV-2 v Sloveniji do konca aprila 2020, je bila sicer znanstveno zelo zanimiv cilj nacionalne raziskave, ampak bistveno manj praktično uporabna kot ocena okuženosti, ker noben ukrep odločevalcev ni bil pripravljen na podlagi ocene prekuženosti, ampak le na podlagi ocene okuženosti v splošni populaciji. Večjo uporabno vrednost bo imela šele ocena prekuženosti v Sloveniji do konca oktobra 2020.

Vsi intervali, ki jih poročamo, temeljijo na percentilih aposteriorne porazdelitve (2,5% in 97,5%).

Kot podrobneje opisano v poglavju 2.8, smo oceno prekuženosti oz. deleža populacije, ki je že prišel v stik s SARS-CoV-2 v Sloveniji do konca aprila 2020 ocenili na dva načina: osnovno in popravljeno glede na specifičnost testa.

3.5.1 Osnovna ocena prekuženosti konec aprila 2020

Konec aprila smo pri 1.316 osebah opravili testiranje na prisotnost anti-SARS-CoV-2 protiteles razreda IgG. Vzorčno povprečje oseb, ki je že prišel v stik s SARS-CoV-2, je 3,11 % ($n = 1.318$; aposteriorno upanje = 3,15 %, 95 % CI = [2,27–4,15 %], 95 % HDR = [2,23–4,10%]).

Kot je podrobno opisano v poglavju 2.6.2, so glede na to, da se je SARS-CoV-2 najverjetneje prvič pojavil v človeški populaciji šele konec leta 2019, in so bili vsi testi, s katerimi dokazujemo imunski odziv na okužbo (anti-SARS-CoV-2 protitelesa), razviti pred kratkim, so njihove dejanske klinične občutljivosti in specifičnosti še vedno neznane oz. jih še vedno ni mogoče natančno in zanesljivo določiti. Konec avgusta 2020 še vedno ne obstaja t.i. »zlato standard« oz. diagnostična metoda za ugotavljanje prisotnosti anti-SARS-CoV-2 protiteles razreda IgG, ki bi jo lahko (tako kot v številnih drugih področjih laboratorijske diagnostike) uporabili kot referenčno metodo za ugotavljanje klinične občutljivosti in specifičnosti testov za določanje anti-SARS-CoV-2 protiteles. Poleg tega je še vedno veliko neznank glede naravnega poteka bolezni, zlasti imunskega odziva na okužbo, njegovega trajanja, specifičnosti in sposobnosti preprečevanja ponovnih okužb, kar glede na dejstvo, da virus poznamo le pol leta, tudi ne preseneča. Raziskave poročajo, da vsaj 40 % okuženih z asimptomatsko obliko okužbe ter 13 % okuženih s simptomatsko obliko okužbe izgubi anti-SARS-CoV-2 protitelesa razreda IgG že v zgodnjem konvalescentnem obdobju (Long et al. 2020) ter da ima v prvih 40 dnevih po prvem molekularnem dokazu okužbe le 1 % okuženih visoko (zaščitno) koncentracijo nevtralizirajočih protiteles IgG in vsaj 33% okuženih teh protiteles sploh nikoli ne razvije (Robbianni et al. 2020).

Kot je podrobno opisano v poglavju 2.6.2 v času izvedbe prve faze nacionalne raziskave, razen opisane interne evalvacije testa Anti-SARS-CoV-2 ELISA IgG ter podatkov proizvajalca o lastnostih testa, v recenzirani znanstveni literaturi ni bilo

objavljene nobene klinične evalvacije testa Anti-SARS-CoV-2 ELISA IgG in nobenih primerjalnih ocen različnih komercialnih seroloških testov za dokazovanje anti-SARS-CoV-2 protiteles, ki so bili takrat na evropskem trgu. Naša interna evalvacija klinične specifičnosti testa Anti-SARS-CoV-2 ELISA IgG opravljena sredi aprila 2020 na skupno 192 vzorcih je pokazala 100 % specifičnost uporabljenega testa ter evalvacija klinične specifičnosti proizvajalca testa, ki je temeljila na testiranju 1.367 vzorcev približno 99,6 % specifičnost (razpredelnica 2). Pomembno je tudi omeniti, da na evropskem trgu v času izvedbe prve faze nacionalne raziskave ni bilo drugih komercialnih seroloških testov za dokazovanje anti-SARS-CoV-2 protiteles, ki bi izkazovali dovolj visoko analitično specifičnost za zanesljivo oceno prekuženosti v populaciji s pričakovano nizko prekuženostjo.

Aposteriorno upanje prekuženosti, ko popravimo za specifičnost, kot jo navaja proizvajalec testa in glede na rezultate interne evalvacije testa (razpredelnica 2), je 2,75 % (95 % CI = [1,79–3,80 %], 95 % HDR = [1,77–3,77 %]). Aposteriorno upanje prekuženosti po MRP (popravek za neodziv) je 3,04 % (95 % CI = [2,16–4,09 %], 95 % HDR = [2,09–4,02 %]). Ker se ocena prekuženosti po popravku specifičnosti testa ni drastično spremenila, smo se ob prvi javni predstavitvi rezultatov maja 2020 odločili o poročanju osnovne prekuženosti ter za izračun popravljene prekuženosti počakali na dodatne podatke o specifičnosti uporabljenega testa iz raziskav objavljenih v recenzirani znanstveni literaturi.

3.5.2 Popravljen ocen prekuženosti glede na oceno specifičnosti testa z dne 15. 06. 2020

Kot navedeno zgoraj, smo se odločili, da bomo periodično opravljali pregled recenzirane znanstvene literature in posledično popravljali preliminarno ocenjeno prekuženosti konec aprila 2020 glede na nove znanstvene izsledke. Za namen prve korekcije ocene prekuženosti smo dne 15. 06. 2020 iskali objave v recenzirani znanstveni literaturi z naslednjimi ključnimi besedami: »Euroimmun«, »anti-SARS-CoV-2«, »antibodies«, »IgG«, »specificity«. Iskanje literature je potekalo v mednarodnih podatkovnih bazah PubMed, ScienceDirect, Medline in Google Scholar. Upoštevali smo samo raziskave, ki so bile objavljene in/ali sprejete v objavo v recenzirani znanstveni literaturi, saj po našem prepričanju odsotnost znanstvene

recenzije (*angl. peer review*) lahko vodi k nezanesljivemu in neprimernemu vrednotenju rezultatov. Identificirali smo skupno 15 evalvacij testa Anti-SARS-CoV-2 ELISA IgG, ki so bile objavljene do 15. 06. 2020, iz tega nabora smo izločili le eno raziskavo zaradi velike verjetnosti, da je bilo preverjanje specifičnosti opravljeno na isti populaciji kot v drugi vključeni raziskavi. V končno analizo smo tako vključili 14 neodvisnih recenziranih člankov, ki so prikazani v razpredelnici 11. Za namen te prve korekcije prekuženosti (Preliminarno poročilo – različica 1.0) smo vključili vseh 14 člankov, čeprav se zavedamo da se kvaliteta objav zelo razlikuje, da so evalvacije in meritve specifičnosti opravljene na zelo heterogenih in glede velikosti in sestave med seboj neprimerljivih populacijah ter z uporabo zelo različnih kriterijev za pričakovani negativen rezultat na prisotnost anti-SARS-CoV-2 protiteles razreda IgG v testiranih vzorcih, kar je najbolj pomemben dejavnik za meritev specifičnosti.

Od 15. 06. 2020 (Preliminarno poročilo - različica 1.0) do konca avgusta 2020 (Preliminarno poročilo - različica 2.0) je bilo v recenzirani znanstveni literaturi objavljenih še nekaj evalvacij testa Anti-SARS-CoV-2 ELISA IgG, ki pa niso bistveno vplivale na oceno specifičnosti testa in posledično na interval ocene prekuženosti konec aprila 2020. Zato smo se raziskovalci odločili, da bomo končne ocene prekuženosti konec aprila 2020 in konec oktobra 2020 podali v končnem poročilu nacionalne raziskave, ki bo predvidoma objavljeno konec novembra 2020. Pri tej bomo ponovno in čim bolj kritično re-evalvirali vse podatke proizvajalca testa, rezultate internih evalvacij testa ter rezultate raziskav objavljenih v recenzirani znanstveni literaturi o ocenah specifičnosti testa Anti-SARS-CoV-2 ELISA IgG. Pri izbiri raziskav, ki jih bomo upoštevali pri oceni specifičnosti testa Anti-SARS-CoV-2 ELISA IgG ter pri posledični korekciji prekuženosti konec aprila 2020, bomo veliko bolj selektivni kot v Preliminarnem poročilu - različica 1.0, kar nam bo omogočilo, da lahko podamo čim bolj natančno oceno intervala prekuženosti v naši populaciji.

Mogoče je še pomembno omeniti, da je dodatni pregled literature konec avgusta 2020 pokazal, da je test Anti-SARS-CoV-2 ELISA IgG trenutno še vedno najbolj pogosto evalviran anti-SARS-CoV-2 serološki test med več kot 300 serološkimi testi, razpoložljivimi na svetovnem trgu konec avgusta 2020 in da so evalvacije specifičnosti drugih pomembnejših anti-SARS-CoV-2 seroloških testov pokazale podobno, zelo

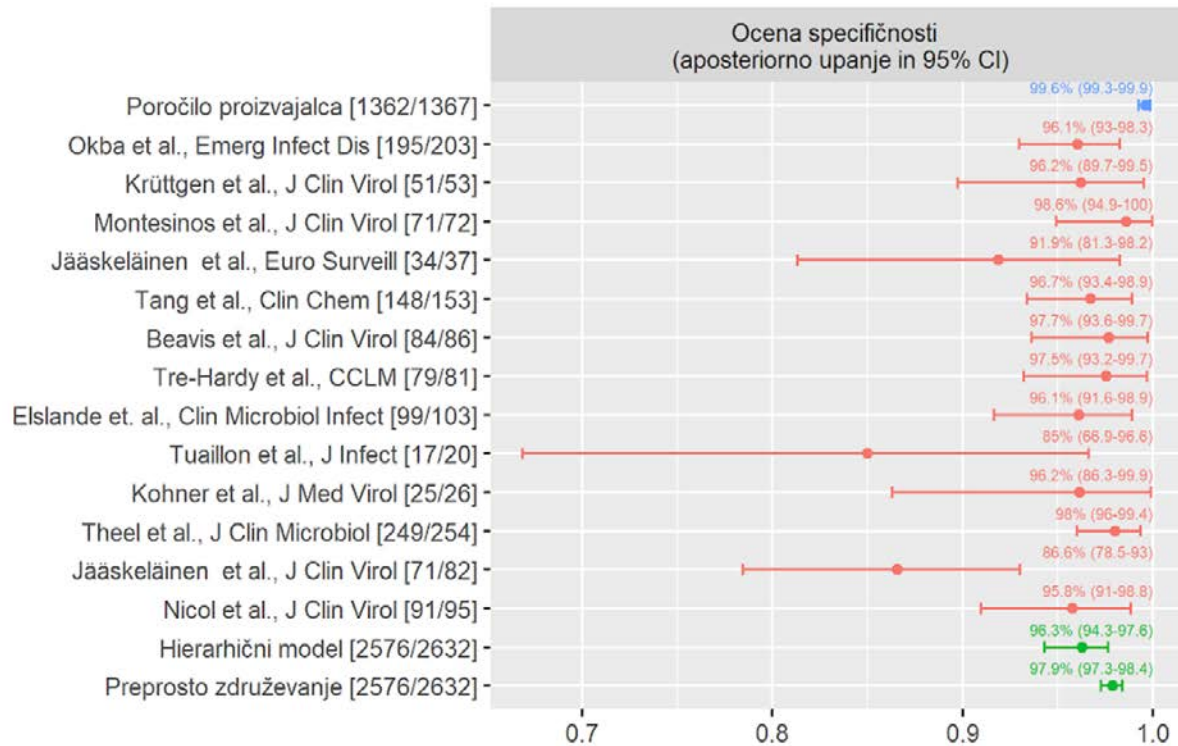
veliko heterogenost ugotovljenih specifičnosti za posamezne teste v različnih evalvacijah, kot smo to ugotovili za test Anti-SARS-CoV-2 ELISA IgG.

Razpredelnica 11. Poročilo proizvajalca, rezultati interne evalvacije ter pregled objavljenih raziskav o specifičnosti testa anti-SARS-CoV-2 IgG v recenzirani znanstveni literaturi po kronološkem vrstnem redu od konca aprila 2020 do 15. 06. 2020.

	Vir	n/N (negativni/št. vseh negativnih)	Specifičnost (95 % CI, če navedena v originalnem viru)
1	Poročilo proizvajalca	1.362/1.367	99,6 %
2	Interna evalvacija	192/192	100,0 %
3	Okba et al., Emerg Infect Dis, 2020	195/203	96,1 %
4	Krüttgen et al., J Clin Virol, 2020	51/53	96,2 %
5	Montesinos et al., J Clin Virol, 2020	71/72	98,6 % (92,5–99,8 %)
6	Jääskeläinen et al., Euro Surveill, 2020	34/37	91,9 %
7	Tang et al., Clin Chem, 2020	148/153	96,7 % (92,5–98,9 %)
8	Beavis et al., J Clin Virol, 2020	84/86	97,7 % (91,9–99,6 %)
9	Tre-Hardy et al., CCLM, 2020	79/81	98 % (91–99 %)
10	Elslande et al., Clin Microbiol Infect, 2020	99/103	96,1 % (90,1–98,8 %)
11	Tuailon et al., J Infect, 2020	17/20	85,0 % (70,4–99,6 %)
12	Theel et al., J Clin Microbiol, 2020	249/254	98,0 % (95,3–99,3 %)
13	Kohner et al., J Med Virol, 2020	25/26	96,2 %
14	Nicol et al., J Clin Virol, 2020	91/95	96,7 % (92,4–98,6 %)
15	Jääskeläinen et al., J Clin Virol, 2020	71/82	86,6 %

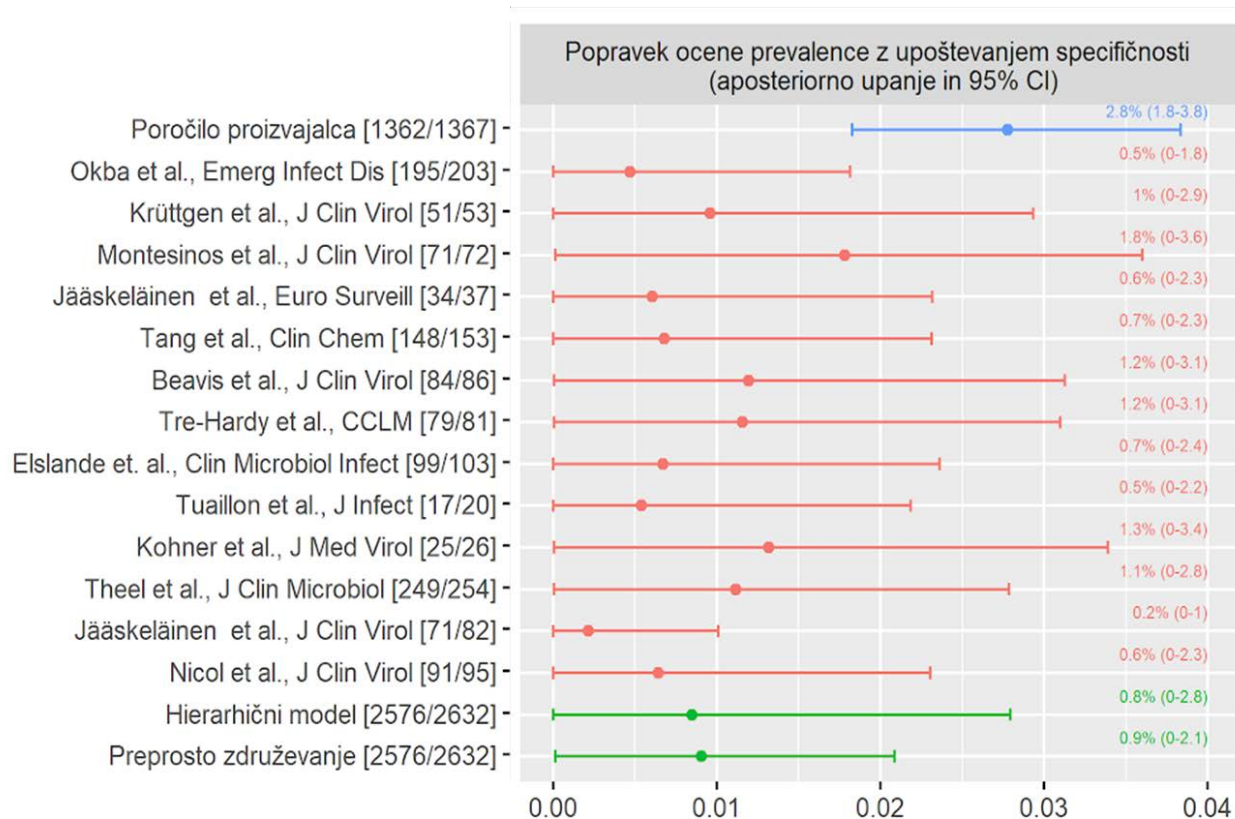
V prvi vrstici slike 8 je prikazana ocena popravljene specifičnosti glede na navodila proizvajalca (modra barva). Z rdečo barvo so označene ocenjene specifičnosti ugotovljene v posameznih raziskavah, z zeleno pa preprosto združevanje raziskav in ocena specifičnosti s hierarhičnim upoštevanjem vseh raziskav. V oklepaju poleg imena raziskave najdemo tudi število pravilno klasificiranih negativnih primerov in število vseh negativnih primerov. Groba specifičnost testa Anti-SARS-CoV-2 ELISA IgG za dokazovanje prisotnosti anti-SARS-CoV-2 protiteles razreda IgG glede na našo meta-analizo objav v recenzirani znanstveni literaturi z dne 15. 06. 2020, upoštevajoč

vse zgoraj navedene omejitve posameznih raziskav, bi tako znašala 97,9 % (95 % CI = [97,3–98,4 %]) po preprostem združevanju raziskav in 96,3 % (95 % CI = [94,3–97,6 %]) po hierarhičnem upoštevanju vseh raziskav.



Slika 8. Ocene specifičnosti testa Anti-SARS-CoV-2 ELISA IgG za dokazovanje anti-SARS-CoV-2 protiteles razreda IgG glede na podatke proizvajalca in objave v recenzirani znanstveni literaturi do 15. 06. 2020.

Na sliki 9 so prikazane pripadajoče popravljene ocene prekuženosti, ki upoštevajo ocene specifičnosti posameznih raziskav iz razpredelnice 11. Z modro barvo je prikazan popravek ocene prekuženosti z upoštevanjem popravljene specifičnosti glede na navodila proizvajalca. Z rdečo barvo so označeni rezultati posameznih raziskav, z zeleno pa popravek ocene prekuženosti s preprostim združevanjem raziskav in s hierarhičnim upoštevanjem vseh raziskav. Aposteriorno upanje prekuženosti, ko popravimo za specifičnost po preprostem združevanju vseh raziskav je 0,9 % (95 % CI = [0–2,1 %]) in 0,8 % (95 % CI = [0–2,80%]) po hierarhičnem upoštevanju vseh raziskav.



Slika 9. Ocena prekuženosti glede na korekcijo specifičnosti uporabljenega testa glede na podatke proizvajalca in objave v recenzirani znanstveni literaturi do 15. 06. 2020.

Proizvajalec testa Anti-SARS-CoV-2 ELISA IgG, je poročal tudi o posodobljeni klinični občutljivosti testa, ki je sedaj evalvirana na skupno 166 vzorcih bolnikov z molekularno potrjeno okužbo s SARS-CoV-2: pri vzorcih, ki so bili odvzeti do 10 dni po prvem molekularnem dokazu okužbe so specifična protitelesa anti-SARS-CoV-2 protiteles razreda IgG ugotovili pri 43,7 % bolnikov in pri vzorcih, ki so bili odvzeti več kot 10 dni po začetku bolezni, so dokazali navedena protitelesa v 94.4 % vzorcev (navodila proizvajalca z dne 02. 06. 2020).

3.6 Rezultati longitudinalne aktivne in pasivne kohortne raziskave

3.6.1 Rezultati prvega obdobja sledenja (18. 05. 2020 – 24. 05. 2020)

Med 18. 05. 2020 in 24. 05. 2020, smo poklicali vseh 1.368 oseb, vključenih v nacionalno raziskavo. Število klicanih preiskovancev in število porabljenih ur po posameznih dneh je prikazano v razpredelnici 12.

Razpredelnica 12. Število klicanih preiskovancev in število porabljenih ur po posameznih dneh v prvem obdobju sledenja (18. 05. 2020 – 24. 05. 2020).

Datum	Število klicanih preiskovancev	Število porabljenih ur
18. 05. 2020	148	23,25
19. 05. 2020	212	13
20. 05. 2020	194	12
21. 05. 2020	258	17,5
22. 05. 2020	219	15
23. 05. 2020	237	18,25
24. 05. 2020	100	6
Skupaj	1.368	105

Telefonski pogovor o zdravstvenem stanju udeležencev in članov njihovih gospodinjstev smo opravili s 1.331 (97,3 %) preiskovanci, ostalih nismo uspeli priklicati. Dve osebi sta se odločili, da ne bosta več sodelovali v raziskavi.

29 preiskovancev je poročalo o respiratornih simptomih in/ali vročini v zadnjih treh tednih (po odvzemu vzorcev za nacionalno raziskavo):

- o pri 22 od 29 smo se obojestransko dogovorili, da testiranje na SARS-CoV-2 RNA ni potrebno, ker simptomi ne kažejo na COVID-19;
- o pri 7 od 29 oseb smo opravili molekularno testiranje brisa nosnega dela žrela na prisotnost SARS-CoV-2 RNA, vseh 7 testov je bilo negativnih.

Dotatno je 5 preiskovancev poročalo, da so se v preteklih treh tednih zaradi različnih nemedicinskih razlogov odločili za molekularno testiranje brisa nosnega dela žrela na SARS-CoV-2 RNA, vseh 5 testov je bilo negativnih.

3.6.2 Rezultati drugega obdobja sledenja (08. 06. 2020 – 15. 06. 2020)

Med 08. 06. 2020 in 15. 06. 2020 smo poklicali vseh 1.366 oseb, vključenih v nacionalno raziskavo (2 osebi sta se v prvem krogu sledenja odločili, da ne bosta več sodelovali). Število klicanih preiskovancev in število porabljenih ur po posameznih dneh je prikazano v razpredelnici 13.

Razpredelnica 13. Število klicanih preiskovancev in število porabljenih ur po posameznih dneh v drugem obdobju sledenja (08. 06. 2020 – 15. 06. 2020)

Datum	Število klicanih preiskovancev	Število porabljenih ur
08. 06. 2020	78	6
09. 06. 2020	151	7,5
10. 06. 2020	166	10
11. 06. 2020	243	12,5
12. 06. 2020	214	11,5
13. 06. 2020	258	15
14. 06. 2020	238	13,5
15. 06. 2020	18	2,5
Skupaj	1.366	78,5

Telefonski pogovor o zdravstvenem stanju udeležencev in članov njihovih gospodinjstev smo opravili s 1.341 (98,17 %) preiskovanci, ostalih nismo uspeli priklicati.

39 preiskovancev je poročalo o respiratornih simptomih in/ali vročini v zadnjih treh tednih (po odvzemu vzorcev za nacionalno raziskavo):

- o pri 28 od 39 smo se obojestransko dogovorili, da testiranje na SARS-CoV-2 RNA ni potrebno, ker simptomi ne kažejo na COVID-19 oz. so bili simptomi zelo blagi in je od njih minilo že več kot 2 tedna;
- o pri 11 od 39 oseb smo opravili molekularno testiranje brisa nosnega dela žrela na prisotnost SARS-CoV-2 RNA, vseh 11 testov je bilo negativnih.

Dodatno sta 2 preiskovanca poročala, da sta se v preteklih treh tednih zaradi različnih nemedicinskih razlogov odločila za molekularno testiranje brisa nosnega dela žrela na prisotnost SARS-CoV-2 RNA, oba testa sta bila negativna.

3.6.3 Rezultati tretjega obdobja sledenja (29. 06. 2020 – 05. 07. 2020)

Med 29. 06. 2020 in 05. 07. 2020 smo poklicali vseh 1.366 oseb, vključenih v raziskavo. Število klicanih preiskovancev in število porabljenih ur po posameznih dneh je prikazano v razpredelnici 14.

Razpredelnica 14. Število klicanih preiskovancev in število porabljenih ur po posameznih dneh v tretjem obdobju sledenja (29. 06. 2020 – 05. 07. 2020)

Datum	Število klicanih preiskovancev	Število porabljenih ur
29. 06. 2020	85	6,5
30. 06. 2020	282	14,5
01. 07. 2020	200	12,5
02. 07. 2020	127	7
03. 07. 2020	138	8
04. 07. 2020	362	18,5
05. 07. 2020	172	10
Skupaj	1.366	77

Telefonski pogovor o zdravstvenem stanju udeležencev in njihovih družin smo opravili s 1.337 (97,87 %) udeleženci, ostalih nismo uspeli priklicati.

82 udeležencev je poročalo o respiratornih simptomih in/ali vročini v zadnjih treh tednih:

- o pri 21 od 82 je bilo opravljeno PCR testiranje brisa nosnega dela žrela na SARS-CoV-2 RNA, vseh 21 testov je bilo negativnih;
- o pri 61 od 82 oseb smo se obojestransko dogovorili, da testiranje na SARS-CoV-2 RNA ni potrebno, ker so bili simptomi zelo blagi in je od njih minilo že več kot 2 tedna oz. ker simptomi niso kazali na COVID-19.

Dodatno je 5 udeležencev poročalo, da so bili v preteklih treh tednih zaradi drugih razlogov testirani na SARS-CoV-2 RNA (4 zaradi hospitalizacije, 1 je bil testiran na Hrvaškem ob vrnitvi iz Bosne in Hercegovine), vsi so bili negativni.

Zaznali smo povečano število blagih respiratornih obolenj pri samih preiskovancih in pri njihovih družinskih članih (še posebej v družinah z majhnimi otroki), ki so minila v roku 2-3 dni, večinoma brez vročine.

18 preiskovancev je poročalo, da so bili na SARS-CoV-2 RNA testirani njihovi družinski člani, vsi so bili negativni.

3.6.4 Rezultati četrtega obdobja sledenja (20. 07. 2020 – 27. 07. 2020)

Med 20. 07. 2020 in 27. 07. 2020 smo poklicali vseh 1.366 oseb, vključenih v raziskavo. Število klicanih preiskovancev in število porabljenih ur po posameznih dneh je prikazano v razpredelnici 15.

Razpredelnica 15. Število klicanih preiskovancev in število porabljenih ur po posameznih dneh v četrtem obdobju sledenja (20. 07. 2020 – 27. 07. 2020)

Datum	Število klicanih preiskovancev	Število porabljenih ur
20. 07. 2020	38	2
21. 07. 2020	195	11,5
22. 07. 2020	196	8,5
23. 07. 2020	321	17
24. 07. 2020	129	5
25. 07. 2020	117	8,5
26. 07. 2020	282	18
27. 07. 2020	88	1,5
Skupaj	1.366	72

Telefonski pogovor o zdravstvenem stanju udeležencev in njihovih družin smo opravili s 1.332 (97,51 %) udeleženci, ostalih nismo uspeli priklicati.

33 udeležencev je poročalo o respiratornih simptomih in/ali vročini v zadnjih treh tednih:

- o pri 9 od 33 oseb je bilo opravljeno PCR testiranje brisa nosnega dela žrela na SARS-CoV-2 RNA, vseh 9 testov je bilo negativnih;
- o pri 24 od 33 oseb smo se obojestransko dogovorili, da testiranje na SARS-CoV-2 RNA ni potrebno, ker so bili simptomi zelo blagi in je od njih minilo že več kot 2 tedna oz. ker simptomi niso kazali na COVID-19.

Dodatno je 8 udeležencev poročalo, da so bili v preteklih treh tednih zaradi drugih razlogov testirani na SARS-CoV-2 RNA (zaradi hospitalizacije, tesnega stika, službenih razlogov, potovanja), vsi so bili negativni. Trije preiskovanci so bili v karanteni, dva zaradi tesnega stika, eden po prihodu iz tujine. V času četrtega obdobja sledenja niso bili testirani na SARS-CoV-2 RNA.

15 preiskovancev je poročalo, da so bili v preteklih treh tednih na SARS-CoV-2 RNA testirani njihovi družinski člani iz skupnega gospodinjstva, vsi so bili negativni.

3.6.5 Rezultati petega obdobja sledenja (10. 08. 2020 – 17. 08. 2020)

Med 10. 08. 2020 in 17. 08. 2020 smo poklicali vseh 1.366 oseb, vključenih v raziskavo. Število klicanih preiskovancev in število porabljenih ur po posameznih dneh je prikazano v razpredelnici 16.

Razpredelnica 16. Število klicanih preiskovancev in število porabljenih ur po posameznih dneh v petem obdobju sledenja (10. 08. 2020 – 17. 08. 2020)

Datum	Število klicanih preiskovancev	Število porabljenih ur
10. 08. 2020	186	14,5
11. 08. 2020	256	15
12. 08. 2020	102	6,5
13. 08. 2020	214	12,5
14. 08. 2020	193	11,5
15. 08. 2020	176	10
16. 08. 2020	162	9,5
17. 08. 2020	77	3,5
Skupaj	1.366	83

Telefonski pogovor o zdravstvenem stanju udeležencev in njihovih družin smo opravili s 1.345 (98,46 %) udeleženci, ostalih nismo uspeli priklicati.

30 udeležencev je poročalo o respiratornih simptomih in/ali vročini v zadnjih treh tednih:

- o pri 10 od 30 oseb je bilo opravljeno PCR testiranje brisa nosnega dela žrela na SARS-CoV-2 RNA, vseh 10 testov je bilo negativnih;
- o pri 20 od 30 oseb smo se obojestransko dogovorili, da testiranje na SARS-CoV-2 RNA ni potrebno, ker so bili simptomi zelo blagi in je od njih minilo že več kot 2 tedna oz. ker simptomi niso kazali na COVID-19.

Dodatno so 4 udeleženci poročali, da so bili v preteklih treh tednih zaradi drugih razlogov testirani na SARS-CoV-2 RNA (zaradi hospitalizacije, tesnega stika, službenih razlogov, potovanja), vsi so bili negativni.

11 preiskovancev je poročalo, da so bili na SARS-CoV-2 RNA testirani njihovi družinski člani iz skupnega gospodinjstva. Pri enem so dokazali aktivno okužbo s SARS-CoV-2 RNA (preiskovanec brez simptomov), preostali so bili negativni.

3.6.6 Rezultati šestega obdobja sledenja (01. 09. 2020 – 07. 09. 2020)

Med 01. 09. 2020 in 07. 09. 2020 smo poklicali vseh 1.366 oseb, vključenih v raziskavo. Število klicanih preiskovancev in število porabljenih ur po posameznih dneh je prikazano v razpredelnici 17.

Razpredelnica 17. Število klicanih preiskovancev in število porabljenih ur po posameznih dneh v šestem obdobju sledenja (01. 09. 2020 – 07. 09. 2020)

Datum	Število klicanih preiskovancev	Število porabljenih ur
01. 09. 2020	47	2
02. 09. 2020	87	4,5
03. 09. 2020	190	9
04. 09. 2020	322	15,5
05. 09. 2020	392	21
06. 09. 2020	246	13
07. 09. 2020	82	3
Skupaj	1.366	68

Telefonski pogovor o zdravstvenem stanju udeležencev in njihovih družin smo opravili s 1.299 (95,30%) udeleženci, ostalih nismo uspeli priklicati. Dve osebi sta umrli (nobena od smrti ni bila povezana s COVID-19), ena oseba se je preselila v Bolgarijo.

61 udeležencev je poročalo o respiratornih simptomih in/ali vročini v zadnjih treh tednih:

- o pri 22 od 61 oseb je bilo opravljeno PCR testiranje brisa nosnega dela žrela na SARS-CoV-2 RNA, pri dveh je bila dokazana aktivna okužba s SARS-CoV-2, preostali so bili negativni;
- o pri 39 od 61 oseb smo se obojestransko dogovorili, da testiranje na SARS-CoV-2 RNA ni potrebno, ker so bili simptomi zelo blagi in je od njih minilo že več kot 2 tedna oz. ker simptomi niso kazali na COVID-19.

Dodatno sta dva udeleženca poročala, da sta bila v preteklih treh tednih zaradi drugih razlogov testirana na SARS-CoV-2 RNA (potovanje v tujino), oba sta bila negativna.

15 preiskovancev je poročalo, da so bili na SARS-CoV-2 RNA testirani njihovi družinski člani iz skupnega gospodinjstva, vsi so bili negativni.

4. DISKUSIJA

4.1 Neodgovori

Kot je značilno za vse anketne raziskave, posebej za tiste, kjer je potrebno od vsake osebe vnaprej pridobiti izrecno pismeno soglasje (*angl. informed consent*), se tudi pri nacionalni raziskavi vse izbrane osebe na vabilo niso odzvale. Za to obstaja vrsta objektivnih in subjektivnih razlogov, kar smo pri vzorčnem načrtu tudi predpostavili in vnaprej pričakovali okoli 50 % odziv.

Za sodelovanje v nacionalni raziskavi se je odločilo 1.368 oseb. Če upoštevamo mednarodno uveljavljene standarde za izračun stopnje odgovorov (AAPOR) (AAPOR, 2016) lahko stopnjo odgovorov ocenimo na $RR2 = 47\%$. Pri tem smo upoštevali oceno, da je 2,5 % populacije, čeprav je v registru navedena kot rezidenčna, v resnici neustrezne (*angl. ineligible*). Gre za osebe, ki so bile vključene v vzorec, dejansko pa niso rezidenti (npr. umrli v zadnjem mesecu, pred kratkim odseljeni, zgolj formalno prijavljeni v Sloveniji ipd.). Ocena izhaja iz drugih raziskav, ki so imele enak vzorčni načrt in enak vzorčni okvir (CRP), vendar pa so lahko – za razliko od naše raziskave – izvajale nadaljnje poizvedbe med nesodelujočimi, kar v primeru nacionalne COVID-19 raziskave zaradi izrecnih omejitev Etične komisije ni bilo mogoče.

Upoštevati velja, da imajo danes tovrstne raziskave tudi sicer v splošnem nizke stopnje odgovorov. To velja tako za družboslovne (Vehovar in Beullens, 2018) kot tudi za epidemiološke (Galea in Tracy, 2007) in druge zdravstvene (Mindell et al., 2015) anketne raziskave. Le pri redkih družboslovnih, zdravstvenih in uradnih anketah lahko danes dosežemo za 10 % (z izjemnimi naporimi morda celo 15 %) višjo stopnjo odgovora kot je bila zaznana v raziskavi COVID-19. To velja za celotni razviti svet in tudi za razmere v Sloveniji, kjer ankete praktično ne presežejo 70 % stopnje sodelovanja. Tako npr. anketa Slovensko javno mnenje in Evropska družboslovna raziskava s težavo in velikimi naporimi presežeta 60 %. Podobno velja tudi za zdravstvene ankete NIJZ in uradne ankete SURS.

Realizirana stopnja sodelovanja (47 %) je zato za raziskavo tega tipa v bistvu zelo ugodna. Povzemimo vse njene značilnosti, ki so neugodno vplivale na stopnjo odgovorov:

- na voljo ni bilo toliko časa za odziv, kot je to v drugih anketnih raziskavah, ki imajo navadno vsaj en mesec, pogosto pa dva meseca ali celo tri in več;
- kontaktiranje izbranih oseb je bilo omejeno na največ dva kontakta, in še to pisemska, pri čemer velja dodati, da je bila zaradi izrazito oteženih okoliščin, ki jih je povzročila pandemija COVID-19, tudi poštna komunikacija do določene mere okrnjena in počasnejša kot sicer. V drugih raziskavah je načeloma mogoče izvesti do pet osebnih kontaktov. Običajno anketno upravljanje (npr. tri, štiri ali pet kontaktov) je bilo pri raziskavi COVID-19 neizvedljivo tudi z vidika izjemno omejenega časovnega okvira izvedbe. Podobno so stroga etična izhodišča raziskave onemogočala tudi kompleksnejša nagovarjanja k sodelovanju ali celo »konverzije«, kjer bi tiste, ki so zavrnilo sodelovanje, poskušali prepričati, da se premislijo;
- v raziskavi ni bilo nobenih daril, niti simboličnih, ki se sicer v drugih anketnih raziskavah pogosto uporabljajo;
- izbrane osebe se v drugih anketnih raziskavah za potrebe pristanka k sodelovanju obiskuje na domovih, pri tej raziskavi pa obiskov in nagovarjanj na domu ni bilo, ampak je glede na stroga etična izhodišča raziskave morala izbrana oseba svoje soglasje sporočiti vnaprej po telefonu oziroma elektronski pošti;
- celoten sistem dogovarjanja, priprav in usklajevanja je običajno premišljen, kompleksen in dolgotrajen, česar v pričujoči raziskavi nikakor ni bilo mogoče pripraviti v celoti;
- po načelni potrditvi sodelovanja v raziskavi COVID-19 po telefonu ali po elektronski pošti so preiskovanci (v primeru otrok starši) morali podpisati še posebno Izjavo o zavestni in svobodni privolitvi v sodelovanje, kar pri družboslovnih in uradnih anketah običajno ni potrebno;
- od udeležencev se je pričakovalo, da bodo pristali na odvzem brisa nosnega dela žrela in venozni odvzem krvi (torej iz žile in ne iz prsta), kar je neprimerno bolj invaziven vstop v posameznikovo zasebnost kot le zastavljanje vprašanj;
- raziskava je potekala v času, ko se je strogo omejevalo stike in je vsak obisk neznanih oseb pomenil določeno nevarnost okužbe s SARS-CoV-2.

Dobljeno stopnjo odgovorov lahko primerjamo z nekaterimi drugimi podobnimi verjetnostnimi študijami v mednarodnem okolju. Ugotovimo lahko, da je dosežena stopnja primerljiva s stopnjo sodelovanja v Avstriji (SORA, 2020) in okraju Los Angeles

v ZDA (Sood et al., 2020), nekoliko zaostaja za Španijo (Ministerio de Sanidad CyBS, 2020), kjer so zaradi posebnih okoliščin dosegli izjemen rezultat in presegli 60% stopnjo odgovorov, visoko pa smo v slovenski raziskavi presegli stopnjo odgovorov (33,7 %) v raziskavi opravljeni v Islandiji (Gudbjartsson et al., 2020).

4.2 Pristranskost zaradi neodgovorov

Glavna težava neodgovorov je, da lahko prihaja zaradi razlik med neudeleženci in udeleženci do pristranskosti ocen (*angl. bias*). V hipotetičnem scenariju slovenske nacionalne COVID-19 raziskave, kjer bi npr. vsi neudeleženci (tj. 53 % ustreznih enot) razvili anti-SARS-CoV-2 protitelesa razreda IgG, bi bila končna ocena prekuženosti višja za 53 %. Čeprav je verjetnost za tak ekstremen scenarij seveda zanemarljivo majhna, pa neposredni protidokazi ne obstajajo, zato lahko vsak, ki to želi, v katerikoli anketni raziskavi z neodgovori oporeka rezultatom. Problem neodgovora je namreč ravno v tem, da statusa nesodelujočih ne poznamo. Obstajajo po pomembni posredni dokazi, ki kažejo, da nevarnosti pristranskosti sicer obstaja, vendar je v primeru naše raziskave zelo malo verjetnosti, da bi bila značilna:

- številne študije so sicer pokazale, da se nerespondenti lahko razlikujejo od respondentov (Callegaro et al., 2015), kar je značilno tudi za zdravstvene raziskave (Christensen et al., 2015), posebej ob fizičnem merjenju (Sakshaug et al., 2010), vendar pa razlike niso izjemno velike (npr. dvakrat ali trikrat). Razlike redko presežejo relativno spremembo za nekaj deset odstotkov;
- izkušnje tudi kažejo, da je velika večina spremenljivk v raziskavah z razmeroma ugodno stopnjo odgovorov (npr. okoli 50 %), precej neobčutljiva na neodgovore. To potrjujejo številne raziskave, ki so izvedene z izjemno nizko stopnjo sodelovanja (celo pod 10 %) in celo na ne-verjetnostnih vzorcih, saj dajejo kljub temu preverjeno dobre ocene (npr. volilni rezultati). Seveda pa obstajajo spremenljivke, ki so na neodgovore nekoliko bolj občutljive (npr. brezposelnost);
- osnovni problem neodgovorov je možnost, da obstaja mehanizem povezanosti med verjetnostjo za neodgovor ter vrednostjo manjkajočega odgovora, pri čemer je ta mehanizem neodvisen od obstoječih kovariat (npr. starost, spol, regija ipd.), s katerimi razpolagamo. Glede morebitne povezanosti med

okuženostjo/prekuženostjo in neodgovori velja zato osvetliti naslednje potencialne razloge:

- o nobenega znanega teoretskega razloga ni, da bi bila pri osebah, ki ne vedo in tudi ne sumijo, da so okuženi/prekuženi, okuženost/prekuženost povezana s pripravljenostjo za sodelovanje v raziskavi. Tvrstna povezanost seveda lahko obstaja, vendar je glede na odsotnost neke jasne teoretske povezave manj verjetna;
- o načeloma bi tovrstno povezanost lahko pričakovali pri osebah, ki ne vedo, vendar sumijo, da so okuženi/prekuženi. Take osebe bi lahko kazale večjo (ali pa tudi manjšo) pripravljenost za sodelovanje. Vendar je na eni strani oseb s tovrstnim sumom v populaciji razmeroma malo, zato pri 2.1 milijonih oseb in verjetnostnem vzorcu to ne more imeti večjega učinka. Povsem drugače bi seveda bilo, če bi vzorec temeljil na prostovoljcih. Raziskave v drugih državah, npr. na Islandiji (Gudbjartsson et al., 2020) kažejo, da v pogledu okuženosti med dovolj velikimi vzorci prostovoljcev in verjetnostnimi vzorci pravzaprav ni bistvenih razlik, čeprav je bila ocena okuženosti v prostovoljnih vzorcih pričakovano nekoliko večja (npr. 0,8 % proti 0,6 %);
- o povezanost bi sicer lahko pričakovali za osebe, ki vedo, da so (oz. so bile) okužene, vendar je bilo v slovenski populaciji z rutinskim ciljnim testiranjem do konca aprila 2020 potrjenih le okoli 1.400 oseb, kar je v primerjavi z 2.1 milijoni povsem zanemarljivo. Za vse zgornje razloge bi tudi težko našli neko teoretsko povezavo (razlog), zaradi katere bi bila lahko navedena stališča povezana s samo okuženostjo/prekuženostjo;
- o na drugi strani so pri približno 55.000 ciljno testiranih osebah v Sloveniji do konca aprila 2020, kjer je bil klinični sum oz. epidemiološka anamneza očitno tako izrazita oziroma utemeljena, da so bile osebe napotene na testiranje na SARS-CoV-2 RNA, ustrezni testi do konca aprila 2020 pokazali okuženost zgolj pri okoli 1.400 osebah. To pomeni, da je celo med osebami, pri katerih se sumi na okužbo s SARS-CoV-2, okuženost zelo majhna. Čeprav je seveda treba ločevati populacijski delež okuženosti od populacijskega deleža prekuženost (ki sta v kompleksnem razmerju), je na osnovi navedene primerjave neosnovano pričakovati, da je med vsemi nerespondenti večji delež okuženih ali prekuženih kot med respondenti.

Bolj verjetno je, da je med nerespondenti delež okuženih/prekuženih kvečjemu manjši (vendar tudi za to ni neke prepričljive utemeljitve) in je zato dobljena ocena konservativna, torej prekuženost verjetno nekoliko precenjuje.

Zgoraj navedene argumentacije so seveda zelo splošne, saj z ustreznimi podatki o nerespondentih ne razpolagamo. V nacionalni COVID-19 raziskavi zaradi strogih etičnih izhodišč (ki veljajo za vse medicinske raziskave v Sloveniji) namreč ni bilo dovoljeno nikakršno spraševanje in kontaktiranje nerespondentov. Ravno tako nacionalna COVID-19 raziskava zaradi specifičnih okoliščin ni imela vključenih nobenih kovariat (dodatnih spremenljivk), ki bi lahko pojasnjevale neodgovore (npr. izobrazba, zdravstveno stanje, druženje, socialni kapital, zaupanje v ljudi), kar močno otežuje analizo neodgovorov. Potencialne analize nerespondentov so zato zelo omejene. Zaenkrat lahko na osnovi razpoložljivih podatkov rečemo le, da so otroci do 10 let manj pogosto sodelovali v raziskavi. Ostali učinki so bolj nejasni oziroma jih zaenkrat ni mogoče odkriti.

Tudi sicer velja poudariti, da je trenutno razmeroma nejasno, ali velja za spremenljivke, povezane s COVID-19, kak poseben mehanizem manjkajočih vrednosti, ki ga ni mogoče pojasniti z obstoječimi kovariatami. Zaenkrat namreč še ni empiričnih raziskav, ki bi to podrobneje osvetlile, razen splošne konceptualne obravnave problematike (Post et al., 2020) ter nekaj preliminarnih indecev neznanemarljivega mehanizma manjkajočih vrednosti za nekatere vrste s COVID-19 povezanega obnašanja v raziskavi (Schaurer et al., 2020), ki nakazuje, da je določeno obnašanje (npr. umivanje rok, zmanjšani družbeni stiki) pogosteje prisotno pri osebah z nekaterim osebnostnimi značilnostmi (npr. samopodoba lene in nezanesljive osebe).

4.3 Uteževanje

Vzorec sodelujočih je bil utežen glede na zgornje kontrolne spremenljivke, pri čemer sta se za osnovno uteževanje uporabili povezani margini za spol x starost ter regija x tip naselja. Uteževanje je sicer postopek, s katerim izenačimo deleže kontrolnih spremenljivk v strukturi vzorca s strukturo populacije. Če je npr. moških v vzorcu 40 % namesto 50 % kot v populaciji, dobijo vsi moški utež 50/40. Večja kot so odstopanja, večji učinek lahko pričakujemo na spremembo ocen za ciljne spremenljivke, seveda

ob dodatnem predpogoju, da so kontrolne spremenljivke povezane s ciljno spremenljivko.

Glede na zgoraj identificirane razlike v kontrolnih spremenljivkah, ki so bile razmeroma majhne, lahko pričakujemo, da bi uteževanje povečalo delež starostne skupine 0-10 let in s tem tudi lastnostni te skupine. V ostalem se vzorec v pogledu kontrolnih spremenljivkah ne razlikuje izraziteje od populacije, zato tudi uteževanje na osnovi teh spremenljivk ne more imeti večjega učinka. Tudi sicer je v verjetnostnih anketah, ki dosegajo stopnje sodelovanja okoli 50 % ali več (še posebej, če ne vključujejo otrok), običajno, da uteži nimajo večjega vpliva na ocene, saj so razlike v kontrolnih spremenljivka praviloma premajhne, povezave med kontrolnimi in ciljnimi spremenljivkami pa prešibke.

Tako se v primeru uporabe osnovnih uteži, ki temeljijo na prilagoditvi glede na zgoraj navedene kontrolne spremenljivke, ocene spremenijo v smeri blagega znižanja ocen okuženosti in prekuženosti. Število aktivno okuženih s SARS-CoV-2 se tako premakne od 2 enot v vzorcu na 1,89.

Seveda pa vsako uteževanje nekoliko poveča vzorčno varianco. Razpon uteži pri osnovnem uteževanju je namreč v intervalu 0,27 – 3,65, standardni odklon normalizirane uteži pa je $SD = 0,39$. Če izračunamo srednjo kvadratno napako (MSE; *angl. mean squared error*), ki upošteva tako spremembo v oceni (pristranskost) kot odgovarjajoči porast v vzorčni varianci (Kalton in Vehovar, 2001), se izkaže, da uteževanje pravzaprav ni upravičeno. Porast v vzorčni varianci namreč v vseh uteževanjih presega 10 % (kar pomeni razširjanje intervalov zaupanja za okoli 5 %), medtem ko so popravki ocen minimalni. Zato je MSE v primeru uteževanja večji, kot brez uteževanja. Posledično so se v vseh nadaljnjih analizah uporabili neuteženi podatki, saj so bili bolj točni (*angl. accurate*), torej z manjšo MSE kot pa uteženi podatki, čeprav imajo neuteženi podatki nekoliko slabši »kozmetičen« videz (npr. struktura spola je malce drugačna kot v populaciji).

Dodajmo, da vse navedeno velja tudi za skrajni primer uteževanja, kjer bi med uteži dodatno vključili tudi inverzno vrednost stopnje odgovora na prvi stopnji v 300 PSU (npr. vsaka enota v PSU, kjer so odgovorile 3 od 10 enot, bi dobila utež 10/3), kar točkovno oceno za okuženost premakne še nekoliko bolj izrazito, in sicer na 1,61. Res pa je, da izkušnje kažejo, da so tovrstne ocene, pridobljene z ekstremnim uteževanjem

– čeprav formalno niso optimalna, ker jih spremlja prevelika MSE –, kažejo v pravo smer; pogosto je prava vrednost še nekoliko dlje v tej smeri.

Pri točkovni in tudi intervalni oceni okuženosti oziroma prekuženosti se je zato uporabilo neuteženi vzorec. Predpostavilo se je tudi enostavni slučajni vzorec (SRS), čeprav smo seveda imeli (implicitno stratificirani) dvostopenjski vzorec, ki npr. varianco ocene za prekuženost zaradi intraklasne korelacije ($\rho = 0,025$) zvišuje za okoli 10 %. Zaradi majhnega deleža prekuženosti sta odgovarjajoče povečanje variance in intraklasna korelacija ocenjeni razmeroma nenatančno, zato se zaradi njune majhne vrednosti ta učinek brez večje škode lahko izpusti. V še večji meri velja to tudi za okuženost, saj sta bili v vzorcu le dve taki enoti.

Dodati velja, da je za posamezne ocene (npr. prekuženost) enakovreden oziroma alternativen pristop uteževanju lahko tudi popravek ocene na osnovi določenega modela. V tem okviru je bil za okuženost in prekuženost tak popravek tudi izveden, in sicer popravek ocen za neodziv na osnovi modelskega pristopa MRP (poglavje 2.8.3). Popravek je upošteval margine vseh kontrolnih spremenljivk (spol, starost, regija, tip naselja), kar je imelo podoben učinek (nekoliko manjši, ker ni vključeval interakcije regija \times tip naselja), kot smo ga navedli pri uteževanju, torej blago nižanje siceršnjih ocen. Poleg tega se zaradi dodanih informacij kontrolnih spremenljivk, ki jih z MRP modelom upoštevamo pri oceni, nekoliko izboljša tudi odgovarjajoča natančnost ocen (ožji CI).

4.4 Točkovne in intervalne ocene

V pričujočem poglavju (Diskusija) smo se ukvarjali predvsem z vzorčnim načrtom, neodgovori ter uteževanjem. Vprašanje končnih ocen (točkovnih in intervalnih) za okuženost in prekuženost je bilo podrobno obdelano v poglavju 3.3. Pri populacijskih ocenah je namreč potrebno – poleg vzorčnih napak – upoštevati tudi popravke zaradi občutljivosti in specifičnosti merjenja, torej za napake, ki izhajajo iz samih uporabljenih laboratorijskih testov. Vsak laboratorijski test, tudi najbolj uveljavljen, namreč lahko z določeno verjetnostjo pokaže napačno pozitiven rezultat, čeprav je dejansko stanje negativno, in tudi obratno, zlasti v populacijah z nizko prevalenco bolezni.

4.5 Umestitev izsledkov slovenske raziskave v mednarodni prostor

Kljub več kot 25 milijonov primerov bolezni COVID-19 in več kot 850.000 smrti zaradi okužbe s SARS-CoV-2 do konca avgusta 2020 so populacijski podatki o prevalenci trenutno aktivno okuženih oseb kot tudi podatki o tistih, ki so prišli v stik s SARS-CoV-2, še vedno v veliki meri nepoznani. Svetovna zdravstvena organizacija (SZO) je v marcu 2020 pripravila priporočila za izvedbo nacionalnih starostno stratificiranih epidemioloških raziskav, ki bi zapolnile to vrzel manjkajočih podatkov; 17. 03. 2020 pa je objavila tudi raziskovalni protokol z namenom, da olajša in spodbudi zbiranje in izmenjavo epidemioloških podatkov o COVID-19 v standardizirani obliki med različnimi državami (WHO, 2020). Glede na priporočila SZO, vsaka država, ki bi se odločila za izvedbo take populacijske raziskave, lahko prilagodi različne vidike protokola raziskave (vključno z diagnostičnim pristopom) glede na kapacitete javnozdravstvenih organizacij, laboratorijev in bolnišnic v državi, razpoložljivost virov in tudi glede na javno sprejemljivost takšnih raziskav. V nadaljevanju diskusije bomo predstavili in primerjali populacijske raziskave, ki so na podlagi naključnega ali reprezentativnega vzorca prebivalcev podale oceno razširjenosti okužb s SARS-CoV-2 na nacionalni ali širši regionalni ravni, z našo nacionalno COVID-19 raziskavo. Za lažjo primerjavo smo raziskave razdelili v tri kategorije:

- populacijske raziskave na nacionalni ali širši regionalni ravni, ki so uporabile le diagnostični pristop molekularnega testiranja na SARS-CoV-2 RNA in podale oceno o populacijski okuženosti oz. razširjenosti trenutno potekajočih aktivnih okužb s SARS-CoV-2;
- populacijske raziskave na nacionalni ali širši regionalni ravni, ki so uporabile le diagnostični pristop serološkega testiranja na anti-SARS-CoV-2 protitelesa in podale oceno o populacijski prekuženosti oz. deležu populacije, ki je že prišel v stik s SARS-CoV-2;
- populacijske raziskave na nacionalni ali širši regionalni ravni, ki so uporabile kombiniran pristop molekularnega in serološkega testiranja ter istočasno podale populacijsko oceno okuženosti in prekuženosti (tako kot slovenska nacionalna COVID-19 raziskava).

Ker se, kot omenjeno, število raziskav kot tudi njihovi izsledki objavljeni v recenzirani znanstveni literaturi dnevno kopičijo s predhodno nepredstavljivo hitrostjo, smo tudi pri umestitvi izsledkov slovenske raziskave v mednarodni prostor vodilni raziskovalci

nacionalne raziskave skrbno in kritično spremljali recenzirano znanstveno literaturo. Za vsako od treh zgoraj navedenih kategorij populacijskih raziskav smo tako zaenkrat povzeli primerjalne rezultate ostalih raziskav in naše raziskave v treh časovnih točkah: času prve predstavitve rezultatov nacionalne raziskave (prvi teden maja 2020), v času priprave Preliminarnega poročila – različica 1.0 (konec junija 2020) in za pričujoče Preliminarno poročilo – različica 2.0 (konec avgusta 2020). Kot omenjeno bo končno poročilo nacionalne raziskave predvidoma objavljeno konec novembra 2020.

Raziskav okuženosti in prekuženosti, ki so še vedno brez ustrezne znanstvene recenzije pridobljenih rezultatov in objavljene le na različnih spletnih portalih/straneh, zaradi nezanesljivosti rezultatov v naša poročila nismo in jih ne bomo vključevali, razen izjemoma, če za to obstajajo utemeljeni razlogi.

4.5.1 Populacijske raziskave okuženosti oz. razširjenosti trenutno potekajočih aktivnih okužb s SARS-CoV-2

Prva nacionalna raziskava, ki je ugotavljala razširjenost aktivnih okužb s SARS-CoV-2 na verjetnostnem vzorcu prebivalcev, in je objavljena v recenzirani znanstveni literaturi je bila izvedena v začetku aprila 2020 na Islandiji (Gudbjartsson et al., 2020), torej slab mesec pred slovensko raziskavo. V skupini preiskovancev, ki so bili naključno izbrani, je bilo 2.283 udeležencev, starih od 20 do 70 let, ki so jih testirali z nekomercialno različico RT-PCR; 0,6 % (95 % CI = 0,3–0,9 %) je imelo aktivno okužbo s SARS-CoV-2. Podobna okuženost (0,8%; 95 % CI = 0,6–1,0 %) je bila potrjena tudi v skupini 10.797 preiskovancev, ki so se odzvali na odprto vabilo k testiranju in je bila pričakovano nižja od skupine preiskovancev, ki so bili ciljano testirani zaradi visokega tveganja za okužbo in/ali prisotnosti simptomov (Gudbjartsson et al., 2020). Čeprav slovenska raziskava zaradi različnih pristopov testiranja, različne starostne strukture testirane populacije (0-99 let v naši raziskavi, 20-70 let v islandski raziskavi) in različne dinamike poteka epidemije ni neposredno primerljiva z islandsko raziskavo, smo pri naši raziskavi opravljeni konec aprila 2020 po pričakovanjih zaznali podobno nizek diagnostični izplen testiranja na verjetnostnem vzorcu (pozitivnih 0,15 % testiranih vzorcev) v primerjavi s ciljanim diagnostičnim testiranjem, opravljenim med februarjem in majem 2020 (pozitivnih 2,6 % testiranih vzorcev), še zlasti pa v primerjavi s ciljanim

diagnostičnim testiranjem v štirih diagnostično najbolj intenzivnih tednih v času prvega vala epidemije v Sloveniji (pozitivnih 4,1 % testiranih vzorcev).

Po podatkih iz literature, je slovenska nacionalna raziskava druga objavljena nacionalna raziskava okuženosti v recenzirani znanstveni literaturi (Maver et al., 2020).

Poleg islandske in slovenske raziskave je bilo mogoče na spletu do konca avgusta 2020 zaslediti le nekaj kratkih in nerecenziranih poročil o podobnih raziskavah v drugih državah, med drugim poročilo o dveh krogih nacionalne presečne raziskave o razširjenosti okužb s SARS-CoV-2 v Avstriji, opravljenih na naključnem reprezentativnem vzorcu prebivalcev, kjer je bila v prvem krogu v začetku aprila 2020 okuženost ocenjena na 0,33 % (95 % CI = 0,12–0,76 %), v drugem krogu nekaj tednov pozneje pa se je ocena okuženosti še znižala (Statistik Austria, 2020; SORA, 2020; Beullens et al., 2020). Čeprav so rezultati teh raziskav še vedno nerecenzirani, jih tukaj predstavljamo zaradi dejstva, da je Avstrija naša sosedka.

4.5.2 Populacijske raziskave prekuženosti oz. deleža populacije, ki je že prišel v stik s SARS-CoV-2

Populacijskih raziskav na nacionalni ali širši regionalni ravni, ki bi ocenjevale populacijsko prekuženost in bile objavljenih v recenzirani znanstveni literaturi konec aprila 2020 še ni bilo.

Prvo tovrstno recenzirano znanstveno poročilo je bilo objavljeno sredi junija 2020 in je ocenilo prekuženost pri odrasli populaciji v okrožju Los Angeles v Kaliforniji (ZDA) na 4,6 % (95 % CI = 2,84–5,60 %) (Sood et al., 2020).

Druga raziskava objavljena konec junija 2020, je bila narejena na verjetnostnem vzorcu predhodno definirane kohorte prebivalcev Ženevskega kantona v Švici, starejših od 5 let. Zasnovana je kot ponovljena presečna raziskava, ki je/bo v predvidoma 12 zaporednih tednih vsak teden testirala naključno izbrane udeležence in člane njihovih gospodinjstev na prisotnost anti-SARS-CoV-2 protiteles razreda IgG (Stringhini et al., 2020). V prvem tednu testiranja (april 2020) je bila prekuženost ocenjena na 4,8 % (n = 341; 95 % CI = 2,4–8,0 %); ocena prekuženosti se je v drugem tednu povečala na 8,5 % (n = 469; 95 % CI = 5,9–11,4 %), v tretjem tednu na 10,9 % (n = 577; 95 % CI = 7,9–14,4 %) v četrtem tednu je bila prekuženost 6,6 % (n = 604; 95 % CI = 4,3–9,4 %),

v petem tednu pa 10,8 % ($n = 775$; 95 % CI = 8,2–13,9 %) (Stringhini et al., 2020). Preiskovanci, stari 5–9 let in starejši od 65 let, so imeli bistveno manjše tveganje za seropozitiven status kot preiskovanci, stari 20–49 let (relativno tveganje [RR] 0,32 [95 % CI = 0,11–0,63] pri starosti 5–9 let in RR 0,50 [95 % CI = 0,28–0,78] pri starejših od 64 let) (Stringhini et al., 2020). Švicarski raziskovalci so za ugotavljanje prisotnosti anti-SARS-CoV-2 protiteles razreda IgG uporabili enak serološki test kot mi v slovenski nacionalni COVID-19 raziskavi (Anti-SARS-CoV-2 ELISA IgG), zanimivo pa je omeniti, da so v osnovnem tekstu članka podali le ocene osnovne prekuženosti (nepopravljene za specifičnost testa), saj naj bi z interno evalvacijo na 176 vzorcih ugotovili 100 % specifičnost uporabljenega serološkega testa.

Do konca avgusta 2020 so v recenzirani znanstveni literaturi bile objavili še dve raziskavi, ki sta ocenjevali populacijsko prekuženost na nacionalni ravni (Pollán et al., 2020; Gudbjartsson et al., 2020). Španska raziskovalna skupina je v začetku maja izvedla raziskavo na naključno izbranem reprezentativnem vzorcu 61.072 oseb (iz 35.883 gospodinjstev), pri čemer so populacijsko prekuženost ocenili glede na rezultate testiranja z dvema serološkima testoma: hitri test (*angl. point-of-care*) Orient Gene Biotech COVID-19 IgG/IgM rapid test cassette (Zhejiang, Kitajska) ter encimsko imunski test SARS-CoV-2 IgG (Abbott Laboratories, ZDA) (Pollán et al., 2020). Za oceno intervala prekuženosti so uporabili dva različna pristopa. Za določitev spodnje meje intervala so privzeli, da ima oseba protitelesa anti-SARS-CoV-2, le če je pozitivna z obema testoma. Za določitev zgornje meje intervala pa so upoštevali, da ima oseba protitelesa anti-SARS-CoV-2, če je pozitivna vsaj z enim od uporabljenih testov. Na ta način so s 95-odstotno verjetnostjo ocenili, da je prekuženost prebivalcev Španije med 3,3 % in 6,6 %, kar pomeni, med 1,5 milijonov in 3,1 milijonov oseb. Pomembno je omeniti, da je velikanska razlika v oceni prekuženosti prebivalcev Španije (negotovost več kot 1,5 milijonov ljudi) nastala kljub uporabi testov, za katere so španski raziskovalci zatrjevali, da imajo zelo visoko analitično specifičnost. Poročali so tudi o izraziti geografski variabilnosti med različnimi regijami, pri čemer je bila najvišja ocenjena prekuženost okoli Madrida (>10 %) in najnižja v obalnih predelih (<3 %) (Pollán et al., 2020).

Konec avgusta so bili objavljeni tudi rezultati pomembne nacionalne raziskave iz Islandije (Gudbjartsson et al., 2020). V raziskavo so med aprilom in junijem vključili 30.576 oseb, starih večinoma med 20 in 65 let, in ocenili prekuženost v treh skupinah:

pri osebah s PCR-dokazano okužbo s SARS-CoV-2 ($n = 1.237$), pri osebah, ki jim je bila odrejena karantena ($n = 4.222$) in pri osebah, ki domnevno niso prebolele COVID-19 ($n = 23.452$). Uporabili so šest različnih testov za dokazovanje protiteles anti-SARS-CoV-2. Za končno oceno prekuženosti so izbrali dva pan-anti-SARS-CoV-2-IgG testa: Elecsys Anti-SARS-Cov-2 (Roche, Bazel, Švica) in Wantai SARS-CoV-2 Ab ELISA (Wantai, Täby, Švedska). Kot dokočno pozitivne so upoštevali le osebe pozitivne z obema uporabljenima testoma. Prekuženost so ocenili v prvi skupini na 91,1 % (95 % CI = 89,4–92,6 %), v drugi skupini na 2,3 % (95 % CI = 1,9–2,8 %) in v tretji na 0,3 % (95 % CI = 0,2–0,4 %) (Gudbjartsson et al., 2020). Podobno kot španski raziskovalci, so tudi raziskovalci iz Islandije ugotovili veliko neskladje v oceni prekuženosti v vseh treh populacijah, če so kot anti-SARS-CoV-2 pozitivne upoštevali osebe pozitivne z obema testoma ali pozitivne z enim od uporabljenih testov, čeprav so zatrjevali zelo visoko analitično specifičnost obeh uporabljenih testov za določanje protiteles anti-SARS-CoV-2.

Ker vsa ostala poročila o populacijskih raziskavah prekuženosti, ki jih najdemo na različnih spletnih portalih/strane, še niso znanstveno recenzirana, ker so v njih uporabljali različne serološke teste, so starostne strukture testiranih preiskovancev v teh raziskavah pomembno različne, in so časovnih obdobja izvedbe teh raziskav znotraj prvega vala pandemije različna, je primerjalno vrednotenje rezultatov, predstavljenih v takšnih nerecenziranih poročilih, lahko problematično, zavajajoče in nezanesljivo kljub morebitni uporabi standardnega znanstvenega pristopa. Tako so bile v teh raziskavah ugotovljene pomembne razlike v stopnji prekuženosti in v veliki večini primerov nepopravljene glede na občutljivost in specifičnost uporabljenih seroloških testov (Bendavid et al., 2020; Studie kolektivni imunity, 2020).

Kot že večkrat omenjeno, je ena od pomembnih omejitev vseh populacijskih raziskav prekuženosti s SARS-CoV-2 (vključno z našo nacionalno raziskavo) uporaba seroloških testov (komercialnih ali razvitih v različnih laboratorijih), ki so bili razviti šele pred kratkim, ki imajo nedefinirano občutljivost in specifičnost, ocenjeno le na podlagi testiranja na omejenem številu vzorcev in na potencialno pristranskih vzorčnih populacijah, brez obstoječega »zlatega standarda« in z zelo omejenimi praktičnimi izkušnjami v vsakodnevni diagnostiki ali v večjih populacijskih študijah. Število objavljenih zanesljivih primerjalnih ocen različnih seroloških testov v recenzirani znanstveni literaturi je še vedno precej omejeno, nobena od objavljenih primerjav pa

zaenkrat ni bila izvedena na dovolj velikem panelu kliničnih vzorcev za natančno oceno specifičnosti testa, zlasti v pogojih izjemno nizke prekuženosti.

4.5.3 Populacijske raziskave, ki istočasno merijo okuženost in prekuženost

Po podatkih iz literature je slovenska nacionalna raziskava prva raziskava objavljena v recenzirani znanstveni literaturi, ki je uporabila kombinirani diagnostični pristop za istočasno oceno okuženosti in prekuženosti, na verjetnostnem vzorcu, reprezentativnem za celotno državo, ki vključuje vse starostne kategorije (Maver et al., 2020). Po dosegljivih podatkih je slovenska nacionalna raziskava zaenkrat tudi edina, ki vključuje longitudinalno spremljanje preiskovancev po vključitvi v raziskavo.

Konec avgusta 2020 so ameriški raziskovalci iz zvezne države Indiana (ZDA) istočasno ocenili okuženost prebivalcev te države na 1,74 % (95 % CI = 1,10–2,54 %) ter prekuženost na 1,09 % (95 % CI = 0,76–1,45 %). Med 25. in 29. aprilom 2020 so v raziskavo vključili 3.658 oseb, starih 12 let ali več, glede na rezultate raziskave je bila verjetno Indiana konec aprila 2020 šele v zgodnji fazi pandemije.

Še ena podobno zasnovana raziskava, je znanstveno še nerecenzirana raziskava CON-VINCE, ki je ocenila okuženost v populaciji prebivalcev Luksemburga, starih od 18 do 79 let na 0,30 % (95 % CI = 0,03–0,56 %) ter prekuženost na 2,09 % (95 % CI = 1,37–2,82 %) (Snoeck et al., 2020). Podobno kot švicarski raziskovalci (Stringhini et al., 2020), so tudi raziskovalci v Luksemburgu za ugotavljanje prisotnosti anti-SARS-CoV-2 protiteles razreda IgG uporabili enak serološki test kot mi v slovenski nacionalni raziskavi (Anti-SARS-CoV-2 ELISA IgG). Tudi oni so, podobno kot švicarski raziskovalci, podali le oceno osnovne prekuženosti, nepopravljene za specifičnost uporabljenega serološkega testa.

5. LITERATURA

Basu A, Zinger T, Inglima K, et al. Performance of Abbott ID NOW COVID-19 rapid nucleic acid amplification test in nasopharyngeal swabs transported in viral media and dry nasal swabs, in a New York City academic institution. *J Clin Microbiol* 2020; v tisku.

Beavis KG, Matushek SM, Abeleda APF, et al. Evaluation of the EUROIMMUN Anti-SARS-CoV-2 ELISA Assay for detection of IgA and IgG antibodies. *J Clin Virol* 2020;129:104468.

Bendavid E, Mulaney B, Sood N, et al. COVID-19 antibody seroprevalence in Santa Clara County, California. *medRxiv* 2020; published online April 30.

Beullens K, Matsuo H, Loosveldt G, Vandenplas C. Quality report for the European Social Survey. London: European Social Survey ERIC 2014. Österreichische Bundesministerium. COVID-19 Studie.
<https://www.bmbwf.gv.at/Themen/Forschung/Aktuelles/COVID-19-Studie.html>
(Dostopano: 21. 05. 2020).

Broder K, Babiker A, Myers C, et al. Test agreement between Roche Cobas 6800 and Cepheid GeneXpert Xpress SARS-CoV-2 assays at high cycle threshold ranges. *J Clin Microbiol* 2020; v tisku.

Callegaro M, Manfreda KL, Vehovar V. V: Web survey methodology, poglavje: Nonresponse. SAGE Publications. 2015.

Christensen AI, Ekholm O, Gray L, Glümer C, Juel K. What is wrong with non-respondents? Alcohol-, drug- and smoking-related mortality and morbidity in a 12-year follow-up study of respondents and non-respondents in the Danish Health and Morbidity Survey. Version 2. *Addiction* 2015;110:1505-12.

Corman VM, Landt O, Kaiser M, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill* 2020;25:2000045.

Cradic K, Lockhart M, Ozbolt P, et al. Clinical evaluation and utilization of multiple molecular in vitro diagnostic assays for the detection of SARS-CoV-2. *Am J Clin Pathol* 2020; v tisku.

Galea S, Tracy M. Participation rates in epidemiologic studies. *Ann Epidemiol* 2007; 17:643-53.

Gudbjartsson DF, Helgason A, Jonsson H, et al. Spread of SARS-CoV-2 in the Icelandic population. *N Engl J Med* 2020, v tisku.

Gudbjartsson DF, Norddahl GL, Melsted P, et al. Humoral immune response to SARS-CoV-2 in Iceland. *N Engl J Med* 2020, v tisku.

Jääskeläinen AJ, Kekäläinen E, Kallio-Kokko H, et al. Evaluation of commercial and automated SARS-CoV-2 IgG and IgA ELISAs using coronavirus disease (COVID-19) patient samples. *Euro Surveill* 2020;25:2000603.

Jääskeläinen AJ, Kuivanen S, Kekäläinen E, et al. Performance of six SARS-CoV-2 immunoassays in comparison with microneutralisation. *J Clin Virol* 2020;129:104512.

Kalton G, Vehovar V. Vzorčenje v anketah. 2001. http://uploadi.mi.ris.org/editor/1416233475VEHOVAR_01.pdf (Dostopano: 30. 06. 2020).

Kohmer N, Westhaus S, Rühl C, Ciesek S, Rabenau HF. Clinical performance of different SARS-CoV-2 IgG antibody tests. *J Med Virol* 2020, v tisku.

Krüttgen A, Cornelissen CG, Dreher M, Hornef M, Imöhl M, Kleines M. Comparison of four new commercial serologic assays for determination of SARS-CoV-2 IgG. *J Clin Virol* 2020;128:104394.

Long QX, Tang XJ, Shi QL, et al. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. *Nat Med* 2020; v tisku.

Maver Vodičar P, Oštrbenk Valenčak A, Zupan B, et al. Low prevalence of active COVID-19 in Slovenia: a nationwide population study of a probability-based sample. *Clin Microbiol Infect* 2020; v tisku.

Menachemi N, Yiannoutsos CT, Dixon BE, et al. Population point prevalence of SARS-CoV-2 infection based on a statewide random sample - Indiana, April 25-29, 2020. *Morb Mortal Wkly Rep* 2020;69:960-4.

Mindell JS, Giampaoli S, Goesswald A, et al. Sample selection, recruitment and participation rates in health examination surveys in Europe-experience from seven national surveys. *BMC Med Res Methodol* 2015;15:78.

Montesinos I, Gruson D, Kabamba B, et al. Evaluation of two automated and three rapid lateral flow immunoassays for the detection of anti-SARS-CoV-2 antibodies. *J Clin Virol* 2020;128:104413.

Moran A, Beavis KG, Matushek SM, et al. The detection of SARS-CoV-2 using the Cepheid Xpert Xpress SARS-CoV-2 and Roche cobas SARS-CoV-2 assays. *J Clin Microbiol.* 2020; v tisku.

National Institute for Public Health and the Environment, Netherlands. The PIENTER Corona study. 2020. <https://scimremreren.tk/en/pienter-corona-study> (Dostopano: 30. 06. 2020).

Nicol T, Lefeuvre C, Serri O, et al. Assessment of SARS-CoV-2 serological tests for the diagnosis of COVID-19 through the evaluation of three immunoassays: two automated immunoassays (Euroimmun and Abbott) and one rapid lateral flow immunoassay (NG Biotech). *J Clin Virol* 2020;129:104511.

Okba NMA, Müller MA, Li W, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2-Specific antibody responses in coronavirus disease patients. *Emerg Infect Dis* 2020;26:1478-88.

Poljak M, Korva M, Knap Gašper N, et al. Clinical evaluation of the cobas SARS-CoV-2 test and a diagnostic platform switch during 48 hours in the midst of the COVID-19 pandemic. *J Clin Microbiol* 2020;58:e00599-20.

Pollán M, Pérez-Gómez B, Pastor-Barriuso R, et al. Prevalence of SARS-CoV-2 in Spain (ENE-COVID): a nationwide, population-based seroepidemiological study. *Lancet* 2020;396:535-44.

Post J, Class F, Kohler U. Unit nonresponse biases in estimates of SARS-CoV-2 prevalence. *Survey Research Methods* 2020;14:115–21.

Pujadas E, Ibeh N, Hernandez MM, et al. Comparison of SARS-CoV-2 detection from nasopharyngeal swab samples by the Roche cobas 6800 SARS-CoV-2 test and a laboratory-developed real-time RT-PCR test. *J Med Virol* 2020; v tisku.

Robbiani DF, Gaebler C, Muecksch F, et al. Convergent antibody responses to SARS-CoV-2 in convalescent individuals. *Nature* 2020; v tisku.

Sakshaug JW, Couper MP, Ofstedal MB. Characteristics of physical measurement consent in a population-based survey of older adults. *Med Care* 2010;48:64-71.

Schaurer I, Weiß B. Investigating selection bias of online surveys on coronavirus-related behavioral outcomes. *Survey Research Methods* 2020;14:103–8.

Snoeck CJ, Vaillant M, Abdelrahman T, et al. Prevalence of SARS-CoV-2 infection in the Luxembourgish population – the CON-VINCE study. *medRxiv* 2020; published online May 18.

Sood N, Simon P, Ebner P, et al. Seroprevalence of SARS-CoV-2-specific antibodies among adults in Los Angeles County, California, on April 10–11, 2020. *JAMA* 2020;323:2425-7.

SORA Institute for Social Research and Consulting, Austria. Spread of SARS-CoV-2 in Austria. April 30, 2020. https://www.sora.at/fileadmin/downloads/projekte/Austria_Spread_of_SARS-CoV-2_Study_Report.pdf (Dostopano: 30. 06. 2020).

SORA. Studienberichte zur 1. SARS-CoV-2. April 30, 2020. <https://www.sora.at/nc/news-presse/news/news-einzelansicht/news/covid-19-praevalenz-1006.html> (Dostopano: 21. 05. 2020).

Stan Development Team. RStan: the R interface to Stan. R package version 2.19.1, 2019. <http://mc-stan.org> (Dostopano: 21. 05. 2020).

Statistični urad Republike Slovenije. Metodološka navodila za popis raziskovalno-razvojne dejavnosti v poslovnem sektorju. Avgust 12, 2019. <https://www.stat.si/StatWeb/File/DocSysFile/8357> (Dostopano: 30. 03. 2020).

Statistični urad Republike Slovenije. Metodološka navodila za popis raziskovalno-razvojne dejavnosti v poslovnem sektorju. 2012. https://www.stat.si/doc/pub/MG-1-12%20R_RD_PS.pdf (Dostopano: 30. 06. 2020).

Statistični urad Republike Slovenije. Smernice za zagotavljanje kakovosti, 2. Izdaja. 2017. https://www.stat.si/dokument/9532/smernice_za_zagotavljanje_kakovosti.pdf (Dostopano: 30. 06. 2020).

Statistik Austria. COVID-19 Prävalenzstudie: maximal 0,15% der Bevölkerung in Österreich mit SARS-CoV-2 infiziert. Maj 4, 2020. http://www.statistik.at/web_de/presse/123051.html (Dostopano 21. 05. 2020).

Stringhini S, Wisniak A, Piumatti G, et al. Seroprevalence of anti-SARS-CoV-2 IgG antibodies in Geneva, Switzerland (SEROCoV-POP): a population-based study. Lancet 2020, v tisku.

Studie kolektivní imunity SARS-CoV-2-CZ-Preval. Maj 6, 2020. <https://covid-imunita.uzis.cz/> (Dostopano: 21. 05. 2020).

Tang MS, Hock KG, Logsdon NM, et al. Clinical performance of two SARS-CoV-2 serologic assays. Clin Chem 2020:hvaa120.

The American Association for Public Opinion Research (AAPOR). Standard definitions: final dispositions of case codes and outcome rates for surveys, 9th edition. 2016. [https://www.aapor.org/Standards-Ethics/Standard-Definitions-\(1\).aspx](https://www.aapor.org/Standards-Ethics/Standard-Definitions-(1).aspx) (Dostopano: 30. 06. 2020).

Theel ES, Haring J, Hilgart H, Granger D. Performance characteristics of four high-throughput immunoassays for detection of IgG antibodies against SARS-CoV-2. J Clin Microbiol 2020, v tisku.

Tré-Hardy M, Wilmet A, Beukinga I, Dogné JM, Douxfils J, Blairon L. Validation of a chemiluminescent assay for specific SARS-CoV-2 antibody. Clin Chem Lab Med 2020, v tisku.

Tuailleon E, Bolloré K, Pisoni A, et al. Detection of SARS-CoV-2 antibodies using commercial assays and seroconversion patterns in hospitalized patients. *J Infect* 2020, v tisku.

Van Elslande J, Houben E, Depypere M, et al. Diagnostic performance of seven rapid IgG/IgM antibody tests and the Euroimmun IgA/IgG ELISA in COVID-19 patients. *Clin Microbiol Infect* 2020, v tisku.

Vehovar V, Beullens K. Cross-national issues in response rates. V: *The Palgrave handbook of survey research*. <https://repozitorij.uni-lj.si/lzpisGradiva.php?lang=eng&id=116191>. Cham, str. 29–42 (Dostopano: 30. 06. 2020).

Vehovar V, Toepoel V, Steinmetz S. "Non-probability Sampling." *The SAGE Handbook of Survey Methodology*. Wolf C, Joye D and W. Smith T. SAGE Publications Ltd, 2016. 329-345. (Dostopano: 30. 06. 2020).

WHO. Population-based age-stratified seroepidemiological investigation protocol for COVID-19 virus infection. Marec 17, 2020. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/331656/WHO-2019-nCoV-Seroepidemiology-2020.1-eng.pdf> (Dostopano: 21. 05. 2020).

SEZNAM SODELUJOČIH RAZISKOVALCEV

Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo

Naloge: Zasnova in vodenje raziskave, koordinacija raziskave, neposredna komunikacija z udeleženci raziskave, delo na terenu (zbiranje vzorcev in vprašalnikov), laboratorijsko testiranje vzorcev, analiza rezultatov testiranja.

prof. dr. Mario Poljak, vodja raziskave, odgovorni raziskovalec

prof. dr. Miroslav Petrovec, vodja skupine

akad. prof. dr. Tatjana Avšič - Županc, vodja laboratorijskega testiranja

doc. dr. Polona Maver Vodičar, koordinator raziskave

znan. sod. dr. Anja Oštrbenk Valenčak, koordinator raziskave

znan. sod. dr. Miša Korva, koordinator laboratorijskega testiranja

znan. sod. dr. Nataša Knap, koordinator laboratorijskega testiranja

Poleg zgoraj navedenih odgovornih oseb je pri izvajanju raziskave sodelovalo več kot 130 zaposlenih na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo MF UL, bodisi neposredno (izvajanje laboratorijskega testiranja, telefonska in elektronska komunikacija z udeleženci raziskave, terenska koordinacija obiskov in odvzemov, priprava materialov za raziskavo, priprava in izdajanje izvidov) bodisi posredno (prevzem vsakodnevnih diagnostičnih obveznosti tistih, ki neposredno sodelujejo v raziskavi).

Univerza v Ljubljani, Fakulteta za računalništvo in informatiko

Naloge: Informacijska podpora, razvoj baze podatkov, spletne rešitve, podatkovna analitika.

prof. dr. Blaž Zupan, vodja skupine, podatkovna analitika

Rafael Frančišek Irgolič, vodja razvoja aplikacije

dr. Matjaž Pančur, strežniške tehnologije, varnost

Jaka Kokošar, baza podatkov, backend razvoj

Robert Cvitkovič, baza podatkov, backend razvoj

Gregor Krmelj, strežniške tehnologije, varnost

Nejc Debevec, uporabniški vmesniki

Andreja Kovačič, testiranje, GDPR, obdelava obrazcev

Nejc Hirci, razvoj spletne strani

doc. dr. Tomaž Hočevar, obdelava obrazcev

prof. dr. Janez Demšar, podatkovna analitika

prof. dr. Erik Štrumbelj, podatkovna analitika

dr. Andrej Čopar, strežniške tehnologije

Ajda Pretnar, dokumentacija, spletne strani

Univerza v Ljubljani, Fakulteta za družbene vede

Naloga: Metodološko svetovanje.

viš. znan. sod. dr. Slavko Kurdija, metodološko svetovanje, predlog vzorčnega načrta

prof. dr. Vasja Vehovar, analiza vzorca in predlog za uteženje

dr. May Doušak, svetovanje za informacijsko podporo

Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta

Naloga: spremljanje in periodično kontaktiranje preiskovancev v longitudinalni fazi nacionalne raziskave

Sara Ručigaj

Joanna Prusnik

Andrej Lipužič

Tanja Adamlje

Nacionalna raziskava o razširjenosti COVID-19 v Sloveniji
Preliminarno poročilo (verzija 2.0, z dne 08. 09. 2020)

Tjaša Pugelj

Manca Bregar

Boris Podobnik

ZAHVALA

Najprej bi se radi zahvalili vsem udeležencem raziskave, ki so sprejeli vabilo in prostovoljno sodelovali v nacionalni COVID-19 raziskavi.

Izvedba raziskave ne bi bila mogoča brez predanega dela mnogih ljudi: sodelavcev, ki so navezovali prvi stik z udeleženci preiskave po potrditvi sodelovanja in so načrtovali vse poti terenskih ekip za odvzem kliničnih vzorcev (Mateja Škamperle, Tina Triglav, Barbara Šoba Šparl, Tjaša Cerar Kišek, Sabina Islamović, Anja Šterbenc, Mateja Pirš, Miša Pavletič, Karin Kregar, Ivana Velimirović); sodelavcev, ki so bili koordinatorji odvzema vzorcev na terenu (Mateja Pirš, Anja Šterbenc, Lara Hudej, Grega Gimpelj Domjanič, Mitja Gajski, Tadej Pliberšek, Petra Hrvat, Jasmina Livk, Petra Čamernik, Nataša Krošelj, Tanja Kozinc, Polona Pretnar, Danijela Petrović, Maja Accetto Kos, Katka Pohar, Jana Boben, Rok Tomazin); celotne diagnostične ekipe SARS-CoV-2 (Mateja Jelovšek, Robert Krošelj, Blanka Kušar, Katarina Resman Rus, Katja Strašek Smrdel, Maja Lunar, Marko Kolenc, Martin Sagadin, Monika Jevšnik Virant, Nina Žigon, Petra Markočič, Rok Kogoj, Tina Uršič, Urška Glinšek Biškup); pregledovalcev anonimiziranih vprašalnikov (Lea Korva, Sabina Islamović, Jasmina Zlotrg).

Zahvala gre vsem zaposlenim na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo Medicinske fakultete Univerze v Ljubljani, zdravstvenim delavcem Reševalne službe Pacient d.o.o. in zaposlenim v klicnem centru Episcenter.

Zahvaljujemo se tudi Statističnemu uradu Republike Slovenije za njihovo pomoč pri oblikovanju verjetnostnega vzorca preiskovancev.

PRILOGA 1

Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo
Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani
Zaloška 4, 1000 Ljubljana

NALEPITI ŠIFRO
PREISKOVANCA

NACIONALNA RAZISKAVA O RAZŠIRJENOSTI BOLEZNI COVID-19 V SLOVENIJI

Anonimni vprašalnik

Prosimo vas, da pozorno preberete vprašanja in nanje odgovorite tako, da označite kvadrato pred odgovorom, ki velja za vas, oziroma vpišete odgovor. Na posamezno vprašanje je možno odgovoriti z več ponujenimi odgovori. Ko boste vprašalnik izpolnili, ga vložite v priloženo ovojnico in jo zalepite. Vaši odgovori bodo anonimni.

Današnji datum: _____

ZDRAVSTVENO STANJE

1. Ali ste opazili/občutili katerega izmed naslednjih kliničnih znakov ali simptomov:

	v zadnjih 2 tednih	v zadnjih 2 mesecih
Vročina	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Mrzlica	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Bolečine v mišicah	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Boleče žrelo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kašelj	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Izcedek iz nosa	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Občutek oteženega dihanja	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Bolečina v prsnem košu	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Izguba voha/okusa	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Glavobol	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Slabost ali bruhanje	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Bolečine v trebuhu	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Driska (tekoče odvajanje blata večkrat dnevno)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Drugo (prosim navedite):		

2. Ali ste zaradi katerega od navedenih simptomov ali znakov poiskali zdravniško pomoč? DA NE

3. Ali ste bili zaradi katerega od navedenih simptomov ali znakov hospitalizirani? DA NE

DEMOGRAFSKI PODATKI IN PODATKI O TESNIH STIKIH Z DRUGIMI OSEBAMI

1. Ali živite sami? DA NE

2. Če ne, koliko ljudi živi v skupnem gospodinjstvu poleg vas? _____
 Koliko ljudi v skupnem gospodinjstvu je mlajših od 12 let? _____
 Koliko ljudi v skupnem gospodinjstvu je starih med 12 in 17 let? _____
 Koliko ljudi v skupnem gospodinjstvu je starih med 18 in 70 let? _____
 Koliko ljudi v skupnem gospodinjstvu je starejših od 70 let? _____

3. Ste bili pred razglasitvijo epidemije zaposleni – označite spodaj:

- zaposlen za polni delovni čas
- zaposlen za skrajšan delovni čas
- samozaposlen
- honorarno zaposlen
- nezaposlen

4. Označite, v kateri sektor spada vaš delodajalec:

- | | |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> zdravstvo in socialno varstvo | <input type="checkbox"/> transport |
| <input type="checkbox"/> kmetijstvo ali gozdarstvo | <input type="checkbox"/> gospodarstvo |
| <input type="checkbox"/> kultura in umetnost | <input type="checkbox"/> trgovina |
| <input type="checkbox"/> nepremičnine | <input type="checkbox"/> izobraževanje |
| <input type="checkbox"/> oskrba z elektriko, vodo, plinom | <input type="checkbox"/> turizem ali hotelirstvo |
| <input type="checkbox"/> tehnična popravila, gospodinjska dela | <input type="checkbox"/> gradbeništvo |
| <input type="checkbox"/> zasebne storitve | <input type="checkbox"/> javna uprava |
| <input type="checkbox"/> industrija | <input type="checkbox"/> finančni sektor |
| <input type="checkbox"/> drugo | |

5. V kakšni obliki poteka vaše delo med epidemijo, če ste zaposleni in delovno aktivni?

- | | |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> hodim v službo | <input type="checkbox"/> delam od doma |
| <input type="checkbox"/> sem na čakanju | <input type="checkbox"/> varstvo otroka |
| <input type="checkbox"/> drugo | |

6. Če hodite v službo, ali ste na delovnem mestu obkroženi z drugimi ljudmi? DA NE

7. Če hodite v službo in imate predšolske otroke/otroke do 12. leta starosti, kako je organizirano njihovo varstvo?

- | | |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> doma, samo z ljudmi v skupnem gospodinjstvu | <input type="checkbox"/> doma, skupaj z otroki iz drugih gospodinjstev |
| <input type="checkbox"/> s pomočjo babic ali dedkov | <input type="checkbox"/> s pomočjo tet ali stricev |
| <input type="checkbox"/> s pomočjo prijateljev in znancev | <input type="checkbox"/> z občinsko pomočjo |
| <input type="checkbox"/> s pomočjo vrtcev in šol | <input type="checkbox"/> drugo |

8. Ali je kdo od ljudi v skupnem gospodinjstvu v zadnjih dveh mesecih opazil/občutil katerega izmed naslednjih kliničnih znakov ali simptomov:

	otroci do 12 let	osebe med 12-17 let	osebe med 18-70 let	osebe starejše od 70 let
Vročina	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kašelj	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Boleče žrelo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Bolečine v mišicah (mialgija)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Glavobol	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Občutek oteženega dihanja	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Driska (tekoče odvajanje blata večkrat dnevno)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

9. Ali lahko ocenite s koliko ljudmi, ki ne živijo z vami v skupnem gospodinjstvu, ste bili v tesnem/neposrednem stiku v **zadnjih 2 tednih**?

- 0 1-2 3-6 7-15 16-30 31-60 več kot 60

10. Ali ste bili v **zadnjih 2 mesecih** v tesnem/neposrednem stiku s kom, ki je bil dokazano pozitiven na SARS-CoV-2?

- DA NE

11. Ali ste bili v **zadnjih 2 tednih** v kateri od zdravstvenih ustanov v Sloveniji? DA NE

12. Ali ste bili v **zadnjih 2 mesecih** v kateri od zdravstvenih ustanov v Sloveniji? DA NE

13. Kako težko vam je dosledno spoštovati vse ukrepe, ki naj bi zavezili širjenje koronavirusa? (1 – zelo težko, 5 – zelo lahko)?

1 2 3 4 5 ne vem

Najlepša hvala za sodelovanje!

NACIONALNA RAZISKAVA O RAZŠIRJENOSTI BOLEZNI COVID-19 V SLOVENIJI

Spoštovani/Spoštovana,

pandemija bolezni COVID-19 oziroma njenega povzročitelja virusa SARS-CoV-2 predstavlja največji izziv za celotno človeštvo v zadnjih desetletjih. Spremljajo jo negotovost in številne neznanke glede značilnosti virusa in njegove sposobnosti širjenja med ljudmi.

V Sloveniji smo z veliko discipline, sodelovanja in solidarnosti vseh prebivalcev – za kar se vam tudi ob tej priložnosti zahvaljujemo – uspeli preprečiti najhujši scenarij, skupaj nam uspeva obvladovati epidemijo in s tem ščititi vse naše bližnje, ki spadajo v najranljivejše skupine.

Ustrezne odločitve o tem, kdaj je primeren čas za rahljanje ukrepov, ki so bili uvedeni z namenom omejevanja epidemije, lahko najbolje sprejemamo na podlagi realnih podatkov. Zato smo v sodelovanju z Vlado Republike Slovenije pripravili Nacionalno raziskavo o razširjenosti bolezni COVID-19 v Sloveniji.

Bili ste izbrani v naključni vzorec 3000 prebivalcev Slovenije, ki smo jih zaprosili za sodelovanje v raziskavi. Izjemno hvaležni bomo, če se boste odzvali našemu povabilu, saj je kakovost zbranih podatkov odvisna prav od vsakega posameznika, ki je pripravljen sodelovati.

Vse podrobnosti o raziskavi si lahko preberete v **POJASNILU O RAZISKAVI**.

Če ste pripravljeni sodelovati v raziskavi, vas prosimo, da nam svoje sodelovanje potrdite na elektronski naslov korona@imi.si ali pokličete na telefonsko številko 080 3008 od 20. 4. do 24. 4. 2020 med 8.00 in 20.00 uro.

Po vašem pristanku na sodelovanje v raziskavi vas bodo poklicali naši sodelavci in vam sporočili dan in uro, ko vas bo na domu obiskal ustrezno usposobljen zdravstveni delavec, ki vam bo odvzel bris zgornjih dihal (za ugotavljanje morebitne aktivne okužbe s SARS-CoV-2) in vzorec krvi (za ugotavljanje, če ste bolezen COVID-19 morda že preboleli). Za namene raziskave vas prosimo tudi, da izpolnite kratek vprašalnik, ki je priložen temu dopisu.

Za vaše sodelovanje se vam že vnaprej najlepše zahvaljujemo. Samo z vašo pomočjo nam bo uspelo čim prej narediti prve korake k vrnitvi v normalno življenje.

Hvala in ostanite zdravi!

Odgovorni raziskovalec
prof. dr. Mario Poljak, dr. med.



Predstojnik Inštituta za mikrobiologijo in imunologijo
izr. prof. dr. Miroslav Petrovec, dr. med.



IZJAVA O ZAVESTNI IN SVOBODNI PRIVOLITVI ZA SODELOVANJE V RAZISKAVI

Spodaj podpisani/a (ime in priimek-tiskano): _____, rojen/a _____ izjavljam, da sem bil/a pisno in ustno seznanjen/a s potekom, namenom in cilji »Nacionalne raziskave o razširjenosti bolezni COVID-19 v Sloveniji«, da sem podrobno prebral/a »Pojasnilo o raziskavi«, oziroma mi je bila razlaga podana ustno in da sem dobil/a odgovore na vsa moja vprašanja v zvezi z raziskavo oz. vem, da lahko kadar koli zaprosim za dodatne informacije in jih tudi dobim.

Vem, kako bo poskrbljeno za mojo varnost in se zavedam, da je sodelovanje v raziskavi prostovoljno in da lahko v vseh fazah raziskave sodelovanje prekinem brez pojasnila in posledic za mojo nadaljnjo zdravstveno obravnavo.

Razumem, da bodo vsi podatki, ki bodo zbrani v raziskavi, popolnoma zaupni in dovoljujem, da se moji demografski in zdravstveni podatki uporabijo v anonimizirani obliki za analizo in objavo v znanstveno-raziskovalne namene. Dovoljujem, da se morebitni ostanki kliničnih vzorcev, ki so mi bili odvzeti med raziskavo, uporabljajo tudi v nadaljnjih raziskavah, vendar izključno v raziskovalne namene.

S podpisom prostovoljno pristajam na sodelovanje v naslednjih delih raziskave:

Izpolnitev vprašalnika	<input type="checkbox"/> Da <input type="checkbox"/> Ne
Odvzem brisa zgornjih dihal	<input type="checkbox"/> Da <input type="checkbox"/> Ne
Odvzem vzorca krvi	<input type="checkbox"/> Da <input type="checkbox"/> Ne
Uporabo mojih kontaktnih podatkov v prihodnosti koordinatorju raziskave (Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, MF UL) za namene te raziskave	<input type="checkbox"/> Da <input type="checkbox"/> Ne

Podpis (sodelujoči):

Ime, priimek in poklic raziskovalca – tiskano:

Podpis raziskovalca:

**IZJAVA O ZAVESTNI IN SVOBODNI PRIVOLITVI STARŠA OZIROMA SKRBNIKA ZA SODELOVANJE V
RAZISKAVI**

Spodaj podpisani starš/roditelj oziroma skrbnik (ime in priimek starša/roditelja oz. skrbnika – tiskano):
_____, rojen/a _____

izjavljam, da sem bil/a pisno in ustno seznanjen/a s potekom, namenom in cilji »Nacionalne raziskave o razširjenosti bolezni COVID-19 v Sloveniji«, da sem podrobno prebral/a »Pojasnilo o raziskavi«, oziroma mi je bila razlaga podana ustno in da sem dobil/a odgovore na vsa moja vprašanja v zvezi z raziskavo oz. vem, da lahko kadar koli zaprosim za dodatne informacije in jih tudi dobim.

Vem, kako bo poskrbljeno za varnost mojega otroka oz. varovanca in se zavedam, da je sodelovanje v raziskavi prostovoljno in da lahko v vseh fazah raziskave sodelovanje prekinem brez pojasnila in posledic za nadaljnjo zdravstveno obravnavo mojega otroka oz. varovanca.

Razumem, da bodo vsi podatki, ki bodo zbrani v raziskavi, popolnoma zaupni in dovoljujem, da se demografski in zdravstveni podatki mojega otroka oz. varovanca uporabijo v anonimizirani obliki za analizo in objavo v znanstveno-raziskovalne namene. Dovoljujem, da se morebitni ostanki kliničnih vzorcev, ki so mu bili odvzeti med raziskavo, uporabljajo tudi v nadaljnjih raziskavah, vendar izključno v raziskovalne namene.

S podpisom prostovoljno pristajam na sodelovanje mojega otroka oz. varovanca (ime in priimek preiskovanca): _____, rojene/ga _____
v naslednjih delih raziskave:

Izpolnitev vprašalnika	<input type="checkbox"/> Da <input type="checkbox"/> Ne
Odvzem brisa zgornjih dihal	<input type="checkbox"/> Da <input type="checkbox"/> Ne
Odvzem vzorca krvi	<input type="checkbox"/> Da <input type="checkbox"/> Ne
Uporabo mojih kontaktnih podatkov v prihodnosti koordinatorju raziskave (Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, MF UL) za namene te raziskave	<input type="checkbox"/> Da <input type="checkbox"/> Ne

Datum:

Datum:

Podpis (starš/roditelj oziroma skrbnik):

Ime, priimek in poklic raziskovalca – tiskano:

Podpis raziskovalca:

POJASNILO O RAZISKAVI

Spoštovani,

vabljeni ste k sodelovanju v Nacionalni raziskavi o razširjenosti bolezni COVID-19 v Sloveniji. Raziskava je izjemnega pomena za vse prebivalce Slovenije, saj bodo njeni rezultati pomagali pri odločanju o rahljanju ukrepov, ki so bili uvedeni z namenom omejevanja epidemije okužb s SARS-CoV-2.

Namen nacionalne raziskave je, da na naključnem vzorcu prebivalcev Slovenije ugotovimo, kakšna je dejanska razširjenost okužb z virusom SARS-CoV-2 v Sloveniji: koliko ljudi v Sloveniji je v tem trenutku aktivno okuženih, pa morda tega niti ne vedo, in koliko ljudi je do zdaj že prišlo v stik z virusom SARS-CoV-2 in prebolelo bolezen COVID-19.

UDELEŽBA JE PROSTOVOLJNA

Sodelovanje v raziskavi je prostovoljno in ga lahko prekinete v vseh fazah brez pojasnila in posledic za vašo nadaljnjo zdravstveno obravnavo.

POTEK RAZISKAVE

Raziskava bo potekala v dveh fazah.

Prva faza:

Izbrani ste bili v naključni vzorec 3000 prebivalcev Slovenije, ki smo jih zaprosili za sodelovanje v raziskavi. Če se boste z raziskavo strinjali in potrdili svoje sodelovanje, vas bo na domu obiskal ustrezno usposobljen zdravstveni delavec, ki vam bo odvzel bris zgornjih dihal (za ugotavljanje morebitne aktivne okužbe z virusom SARS-CoV-2) in vzorec krvi (za ugotavljanje že prebolele bolezni COVID-19). Hkrati vas bomo prosili, da zdravstvenemu delavcu oddate izpolnjen priloženi vprašalnik.

Druga faza:

Ta del preiskave bo potekal naslednjih 6 mesecev. Vsakih 14 dni vas bomo po telefonu poklicali in vas povprašali o vašem zdravju in počutju. Če boste povedali, da imate katerega od simptomov in znakov okužbe dihal, bomo ponovno organizirali odvzem brisa zgornjih dihal in odvzem krvi.

Po 6 mesecih vam bomo ponovno odvzeli kri in preverili, ali ste v tem obdobju prišli v stik z virusom SARS-CoV-2, ne glede na to, če ste kadarkoli imeli okužbo dihal ali ne.

REZULTATI TESTIRANJA

Za vse rezultate testiranja na virus SARS-CoV-2 boste prejeli uradni izvid, ki ga bo bomo izdali na Inštitutu za mikrobiologijo in imunologijo in vam ga poslali po pošti, skupaj z razlago rezultatov.

Če bomo pri vas odkrili aktivno okužbo z virusom SARS-CoV-2, bomo nemudoma obvestili tudi ustrezno epidemiološko službo, ki vas bo poklicala in ustrezno obravnavala.

Prednosti in slabosti sodelovanja v raziskavi

Prednost sodelovanja v raziskavi je, da boste v vsakem trenutku imeli takojšnji dostop do testiranja na okužbo s SARS-CoV-2, svetovanja in zdravniške obravnave, če se bodo v času trajanja raziskave pri vas pojavili simptomi in znaki okužbe dihal. Poleg tega boste ob zaključku raziskave na podlagi testiranja vašega vzorca krvi zagotovo vedeli, ali ste v času epidemije prišli v stik z virusom SARS-CoV-2 ali ne.

Slabost sodelovanja v raziskavi je le to, da je odvzem brisa zgornjih dihal lahko neprijeten, vendar je postopek za zdravje nenevaren. Pri odvzemu krvi lahko pri zelo majhnem deležu ljudi pride do omedlevice (t. i. vazovagalne sinkope), vendar bodo odvzem krvi izvajali izkušeni zdravstveni delavci, ki so sposobni pravilno odreagirati na vse predvidene in nepredvidene morebitne neželene reakcije.

Varstvo vaših osebnih podatkov

Ob vstopu v raziskavo vam bo dodeljena posebna, neponovljiva šifra, s katero bo označen tudi vprašalnik, ki ga boste izpolnili. Vsi podatki, ki bodo zbrani v namen te raziskave, bodo dostopni le raziskovalcem, ki sodelujejo v raziskavi.

S podpisom izjave o zavestni in svobodni privolitvi boste dovolili analizo in objavo podatkov, ki bodo zbrani v raziskavi, vendar ti ne bodo vsebovali nobenih informacij o vaši identiteti.

Objava rezultatov

O rezultatih testiranja vaših vzorcev vas bomo obvestili na način, kot je opisano zgoraj.

Ker gre za raziskavo nacionalnega pomena, bodo skupni rezultati raziskave objavljeni tako v sredstvih množičnega obveščanja za informiranje širše javnosti, kot tudi v znanstveni literaturi, s čimer bomo doprinesli k boljšemu razumevanju širjenja okužb z virusom SARS-COV-2 in ustreznih ukrepov za omejevanje epidemije.

Pravica, da zavrnete ali prekinete sodelovanje v raziskavi

Kot je bilo omenjeno že zgoraj, imate vso pravico, da kadarkoli zavrnete sodelovanje v tej raziskavi. Sodelovanje v raziskavi je prostovoljno in vašo odločitev bomo spoštovali.

KONTAKT VODJE RAZISKAVE

Če vas v zvezi z raziskavo in vašim sodelovanjem zanima še kaj ali opazite hujše poslabšanje simptomov, se obrnite na vodjo raziskave prof. dr. Maria Poljaka, dr. med., kadarkoli prek spletne pošte mario.poljak@mf.uni-lj.si ali na telefonsko številko 031 666 915 vsak delavnik med 8:00 in 15:00.

NACIONALNA RAZISKAVA O RAZŠIRJENOSTI BOLEZNI COVID-19 V SLOVENIJI
SPREMLJANJE PREISKOVANCEV

ŠIFRA PREISKOVANCA: _____

DATUM KONTAKTIRANJA: _____

ZAPOREDNA ŠTEVILKA KONTAKTIRANJA: _____

TELEFONSKI KLIC OPRAVIL: _____

ZDRAVSTVENO STANJE

1. Ali ste **V ZADNIH DVEH TEDNIH** opazili/občutili katerega izmed naslednjih kliničnih znakov ali simptomov:

	DA	NE
Vročina	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Mrzlica	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Bolečine v mišicah	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Boleče žrelo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Kašelj	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Izcedek iz nosa	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Občutek oteženega dihanja	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Bolečina v prsnem košu	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Izguba voha/okusa	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Glavobol	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Slabost ali bruhanje	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Bolečine v trebuhu	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Driska (tekoče odvajanje blata večkrat dnevno)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Drugo (prosim navedite):		

2. Ali ste zaradi katerega od navedenih simptomov ali znakov poiskali zdravniško pomoč? DA NE

3. Ali ste bili zaradi katerega od navedenih simptomov ali znakov hospitalizirani? DA NE

4. Ali je kdo od ljudi v skupnem gospodinjstvu **V ZADNIH DVEH TEDNIH** opazili/občutili katerega izmed naslednjih kliničnih znakov ali simptomov: DA NE

OPOMBE:



Contents lists available at ScienceDirect

Clinical Microbiology and Infection

journal homepage: www.clinicalmicrobiologyandinfection.com

Original article

Low prevalence of active COVID-19 in Slovenia: a nationwide population study of a probability-based sample

P. Maver Vodičar^{1,†}, A. Oštrbenk Valenčak^{1,†}, B. Zupan², T. Avšič Županc¹, S. Kurdija³, M. Korva¹, M. Petrovec¹, J. Demšar², N. Knap¹, E. Štrumbelj², V. Vehovar³, M. Poljak^{1,*}¹ Institute of Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, University of Ljubljana, Ljubljana, Slovenia² Faculty of Computer and Information Science, University of Ljubljana, Ljubljana, Slovenia³ Faculty of Social Sciences, University of Ljubljana, Ljubljana, Slovenia

ARTICLE INFO

Article history:

Received 12 June 2020

Received in revised form

8 July 2020

Accepted 10 July 2020

Available online xxx

Editor: L. Leibovici

Keywords:

COVID-19

PCR

Prevalence

Probability-based sample

SARS-CoV-2

Serology

ABSTRACT

Objectives: Accurate population-level assessment of the coronavirus disease 2019 (COVID-19) burden is fundamental for navigating the path forward during the ongoing pandemic, but current knowledge is scant. We conducted the first nationwide population study using a probability-based sample to assess active severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection, combined with a longitudinal follow-up of the entire cohort over the next 6 months. Baseline SARS-CoV-2 RNA testing results and the first 3-week follow-up results are presented.

Methods: A probability-based sample of the Slovenian population comprising data from 2.1 million people was selected from the Central Population Register ($n = 3000$). SARS-CoV-2 RNA was detected in nasopharyngeal samples using the cobas 6800 SARS-CoV-2 assay. Each participant filled in a detailed baseline questionnaire with basic sociodemographic data and detailed medical history compatible with COVID-19. After 3 weeks, participants were interviewed for the presence of COVID-19-compatible clinical symptoms and signs, including in household members, and offered immediate testing for SARS-CoV-2 RNA if indicated.

Results: A total of 1368 individuals (46%) consented to participate and completed the questionnaire. Two of 1366 participants tested positive for SARS-CoV-2 RNA (prevalence 0.15%; posterior mean 0.18%, 95% Bayesian confidence interval 0.03–0.47; 95% highest density region (HDR) 0.01–0.41). No newly diagnosed infections occurred in the cohort during the first 3-week follow-up round.

Conclusions: The low prevalence of active COVID-19 infections found in this study accurately predicted the dynamics of the epidemic in Slovenia over the subsequent month. Properly designed and timely executed studies using probability-based samples combined with routine target-testing figures provide reliable data that can be used to make informed decisions on relaxing or strengthening disease mitigation strategies. **P. Maver Vodičar, Clin Microbiol Infect 2020;••1**

© 2020 European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

Introduction

The World Health Organization (WHO) announced a coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) on 11 March

2020 after rapid global spread of the disease. Starting as a local emergence in late 2019 [1–3], almost 12 million cases and 550 000 SARS-CoV-2-related deaths had been confirmed worldwide as of 7 July 2020. Because of the wide variety of clinical presentation, which range from asymptomatic infection to severe respiratory failure requiring intensive care treatment and mechanical ventilation, the burden of disease varies across the world, and the true prevalence of both active and resolved COVID-19 is still largely unknown.

Countries' success in curbing the first wave of the SARS-CoV-2 epidemic was greatly influenced by the speed and extent of

* Corresponding author: M. Poljak, Institute of Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, University of Ljubljana, Zaloška cesta 4, 1000, Ljubljana, Slovenia.

E-mail address: mario.poljak@mf.uni-lj.si (M. Poljak).

† The first two authors contributed equally to this article, and both should be considered first author.

healthcare authorities' containment efforts and mitigation strategies to reduced the spread among the population, keeping the influx of new COVID-19 patients into hospitals manageable and sustainable for the healthcare system's capacities [4–7].

Cultural differences and community discipline were additional important factors influencing the level of compliance with decisions by healthcare authorities and politicians. Currently, the main uncertainty is how to determine the point on the epidemic curve when reopening society and cautiously relaxing measures is safe and sustainable. Accurate assessment of the COVID-19 burden at the community level is fundamental, and a survey using a probability-based sample is an essential component needed to make informed decisions on measures to help navigate the path forwards during the evolving epidemic [8].

We present the study design and baseline results of SARS-CoV-2 RNA detection in nasopharyngeal samples, as well as the first 3-week follow-up results of an ongoing nationwide population study on the SARS-CoV-2 burden in Slovenia using a probability-based population sample with a planned 6-month longitudinal follow-up. To our knowledge, this study is the first to use a probability-based sample representative of the whole country and across all age categories, combined with a longitudinal follow-up of the cohort over the next 6 months. The low prevalence of active COVID-19 infection assessed in this study provided important complementary data to daily epidemiologic surveillance and routine target-testing data. Combining both approaches accurately predicted the epidemic dynamic in Slovenia over the subsequent month, and provided a basis for informed decisions on the gradual and controlled relaxation of mitigation strategies, which ultimately led to Slovenia's being the first country in Europe to officially declare the end of the first wave of the epidemic, as of 31 May 2020.

Methods

Study design

This Slovenian national study using a probability-based sample was planned in two phases (Fig. 1). The first cross-sectional phase, which took place between 20 April and 1 May 2020, was performed to determine the burden of active SARS-CoV-2 infections in the general population that may have gone undetected within the past and current testing approaches and epidemiologic contact tracing. Selected persons were sent an invitation letter and a two-page questionnaire by postal mail about their household structure, their recent contacts and travel history, and their own and household members' potential COVID-19-compatible symptoms experienced in the past 2 months. According to General Data Protection Regulation rules, we were only allowed to contact these persons using regular post and publicly available landline and mobile telephone numbers. Respondents expressed their willingness via telephone or e-mail; however, in line with the study's protocol, refusals were asked no further questions and were not reapproached. Those who did not respond were sent a reminder by post 1 week after the first invitation. The study design is shown in Fig. 1.

The second phase included longitudinal tracking of the cohort, allowing close and active monitoring of the epidemic dynamics at the population level in the following 6 months. Participants were interviewed by medically qualified personnel every 3 weeks for the presence of COVID-19-compatible clinical symptoms and signs, including in household members. If infection was suspected, they were offered immediate testing. In addition, the participants were provided with a dedicated mobile number and e-mail address so they could actively report their own and household members' health status at any time during the study. The first follow-up calls took place between 18 May and 24 May 2020.

After 6 months of follow-up, exit anti-SARS-CoV-2 serologic testing of the entire cohort is planned for October 2020 to determine the cumulative incidence of SARS-CoV-2 infections in the general population.

Participants

The sample was created following a well-established national practice for probability-based official, academic and public health surveys. The sample was selected on 31 March 2020 from the Central Population Register (CPR), which is maintained by the Ministry of the Interior and which includes all permanent and temporary residents of Slovenia (Fig. 1). The chosen gross sample size ($n = 3000$) matched the available resources and time limitations (1–2 weeks of fieldwork) and was also sufficient for the study aims. The sampling design minimized fieldwork costs, which involved ten to 12 trained medical teams with ambulances per day, by selecting 300 census enumeration areas as primary sampling units. The selection of these units followed the implicit stratification according to region and settlement type. Within each unit, ten persons were randomly selected; data from the CPR on age, sex, region and size and type of settlement were also attached.

All study participants provided written informed consent; for participants under 18, consent was provided by parents or guardians. To ensure confidentiality, all samples and questionnaires were coded and analysed anonymously. The study was approved by the National Medical Ethics Committee of the Republic of Slovenia (consent 0120-199/2020/19) and registered with ClinicalTrials.gov (NCT04376996).

SARS-CoV-2 RNA testing

Detection of SARS-CoV-2 RNA in nasopharyngeal samples was performed using the clinically validated, fully automated sample-to-result two-target PCR-based assay cobas 6800 SARS-CoV-2 (Roche, Branchburg, NJ, USA) according to the manufacturer's instructions, as previously described in detail [9]. Briefly, the sample was considered positive if either both the *ORF1* (target 1) and *E* (target 2) genes, or only the *ORF1* gene tested positive. Internal validation showed the assay's excellent 100% sensitivity and 100% specificity [9]. The assay received US Food and Drug Administration emergency use authorization on 12 March 2020.

Statistical analysis

We estimated the prevalence θ with a binomial beta conjugate model with noninformative (Jeffrey's) prior on prevalence:

$$y \sim \text{Binomial}(n, \theta); \theta \sim B\left(\frac{1}{2}, \frac{1}{2}\right),$$

with n being the sample size and y the number of positive cases. The analysis was performed in R software [10]. We used 1000 warmup and 1 million sampling iterations, which is sufficient for the sampling-based approximation error to be lower than the number of decimal places reported. Confidence intervals (CI) are based on the 2.5% and 97.5% percentiles of the posterior distribution.

Results

The response rate, adjusted for noneligible persons, was 47% American Association for Public Opinion Research (AAPOR) (Fig. 1). The study included 1368 participants, 663 men (48.5%) and 705

women (51.5%). The mean age was 46.0 years (range, 3 months to 99 years). Of these, 1366 participants were tested for SARS-CoV-2 RNA between 20 April and 1 May 2020. The sample matched the population structure well; the differences in sex, region and settlement type were not statistically significant (χ^2 , $p > 0.01$). The age structure was mismatched only for the age groups 0 to 10 years

(7.3% instead of 11.0%) and 51 to 60 years (18.3% instead of 14.0%). However, as a result of small differences, the weighting procedures had little effect, and when optimizing the mean squared error, the corresponding reduction in the bias component was smaller than the related increase in the variance component due to weighting.

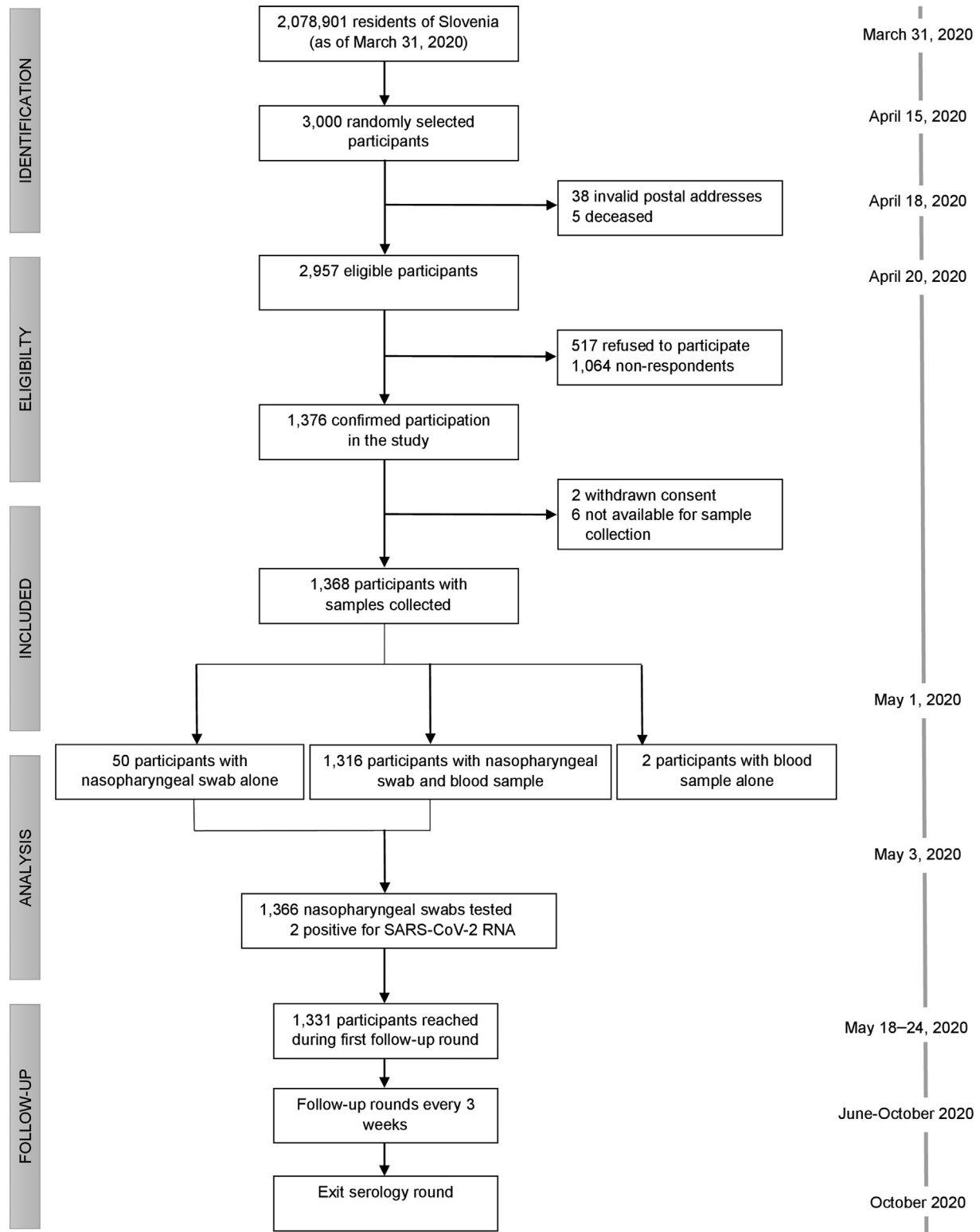


Fig. 1. Study design.

Therefore, the study results, as reported here, are based on the unweighted data.

Of 1366 nasopharyngeal swabs, two tested positive for SARS-CoV-2 RNA using the cobas 6800 SARS-CoV-2 assay, corresponding to a prevalence of 0.15% (posterior mean = 0.18%, 95% Bayesian CI 0.03–0.47; 95% highest density region (HDR) 0.01–0.41). Both cobas SARS-CoV-2 RNA-positive samples were additionally confirmed to be positive by two-target reverse transcriptase PCRs (SARS-CoV-2 specific and pan-*Sarbecovirus*) using commercially available primers and FAM-labeled hydrolysis probes [11]. No correction of the estimate of prevalence for sensitivity or specificity was performed. One participant was newly diagnosed with COVID-19 and one had previous PCR-confirmed SARS-CoV-2 infection; both participants experienced COVID-19-defining symptoms 2 and 5 weeks before study sampling, respectively.

Between 18 May and 24 May 2020, all enrolled participants were contacted again. Of 1331 participants (97.3%) reached by 24 May 2020, a total of 29 reported acute respiratory symptoms and/or fever during 3 weeks after initial sampling and were offered SARS-CoV-2 RNA testing. During detailed telephone medical consultation, for 22 participants it was jointly agreed not to test for SARS-CoV-2 RNA because of the high probability that the symptoms recalled were linked to other medical conditions. Finally, seven participants were tested for SARS-CoV-2 RNA; all had negative results. In addition, five participants informed us that they sought testing for SARS-CoV-2 RNA during the 3 weeks after the initial sampling at their own discretion and for nonmedical reasons; all were SARS-CoV-2 RNA negative and reported no COVID-19-compatible symptoms.

Discussion

Despite almost 12 million recorded cases, knowledge about the population COVID-19 burden is scant. To address this knowledge gap, the WHO recently recommended nationwide population-based, age-stratified epidemiologic surveys and designed an investigation study protocol to facilitate the collection and sharing of COVID-19 epidemiologic data in a standardized format [12]. Each country that performs such a survey may tailor different aspects of the study protocol (including the diagnostic approach) according to its public health, laboratory and clinical capacities, availability of resources and cultural acceptance [12]. However, as of early June 2020, very few population studies have been performed using a probability-based sample assessing the COVID-19 burden on a national or broader regional level, and even fewer have been published in the peer-reviewed literature [13,14].

To our knowledge, so far, the only peer-reviewed study surveying the active COVID-19 burden using a national probability-based sample was performed in April 2020 in Iceland [13]. In the probability-based sample arm, 2283 participants (20–70 years old) were tested, and 0.6% (95% CI 1.3–0.9) samples were positive for SARS-CoV-2 RNA. A similar prevalence (0.8%; 95% CI 0.6–1.0) was recorded in an open-invitation arm (10 797 participants), but it was significantly higher in the targeted-testing arm (13.3%). Although not directly comparable because of different testing approaches, different age populations tested (0–99 years vs. 20–70 years) and the different epidemic dynamic of both countries, the diagnostic yield of targeted testing in Slovenia was also expectedly higher (2.6%; 4.1% in the four diagnostically most intensive weeks) than that assessed in our study's probability-based sample (0.15%) (Fig. 2).

In addition to the Icelandic and Slovenian studies, our intensive language-nonrestricted literature search identified a non-peer-reviewed notice of two rounds of an Austrian cross-sectional study on a probability-based sample that estimated active COVID-19

prevalence at 0.33% (95% CI 0.12–0.76) in the first-round survey, which further decreased in the second-round survey [15–17]. A non-peer-reviewed CON-VINCE Luxembourgian study estimated an active COVID-19 prevalence of 0.3% (95% CI 0.03–0.56) in people 18 to 79 years old [18]. Although these studies surveyed different age populations using different diagnostic approaches and are highly sensitive to differences in timing within the epidemic curve, all yielded results comparable to our study. As a result of the non-peer-reviewed nature of the identified reports, direct comparison of results using a critical scientific approach is impossible [19,20]; however, this is temporary because many studies are currently underway or have reporting backlogs.

Although baseline blood samples were already collected, because of the current uncertainty regarding the accuracy of anti-SARS-CoV-2 assays (especially specificity and consequently low positive predictive value when testing low-prevalent and random populations) [21–24], we have decided to publish seroepidemiologic part of our study after collecting both baseline and exit blood samples for each study participant. We hope that in the meantime a consensus regarding reference-standard serologic assays will have been reached or some form of confirmatory algorithm for seropositive results developed. A similar approach was also recently taken by the US Centers for Disease Control and Prevention [25].

As summarized in Fig. 2, as of 10 June 2020, a total of 86 994 SARS-CoV-2 tests (41 426 tests per million inhabitants) have been performed in Slovenia, which has detected 1488 laboratory-confirmed COVID-19 cases and reported 109 deaths (<https://covid-19.sledilnik.org/en/stats>). This study further confirmed the effectiveness of the draconian containment measures in Slovenia during the first wave of the epidemic, which were introduced simultaneously with the official declaration of the epidemic on 12 March 2020. On 16 March, public transport was shut down, and all educational institutions (preschools, schools and universities) and public institutions such as museums, libraries, theatres and sport facilities were closed. Nonessential medical procedures were cancelled, all nonessential shops and services were closed, and public gatherings were prohibited. In addition, international travel was restricted, and national borders were completely closed. On 29 March 2020, population mobility was further restricted to home municipalities, with strict police control. Containment and mitigation efforts, the early availability of reliable and clinically validated PCR tests, and prompt and central reporting of the results and immediate epidemiologic contact tracing were fundamental in limiting the epidemic's spread in Slovenia in its early phases. However, the national testing recommendations changed several times during the course of the epidemic, starting with a very conservative approach and initially testing only those with severe clinical presentation from 14 March to 7 April 2020 (mainly due to the limited supply of reagents and consumables), then later expanding recommendations to include patients with milder disease if they were over 60 or had any risk factors for a more severe disease course. In addition, the contact tracing recommendations also changed several times; unfortunately, limited personnel capacity meant that no direct epidemiologic contact tracing was in place and no quarantine officially introduced from 30 March to 20 April 2020.

There are some important limitations of our study that must be considered. Although SARS-CoV-2 RNA testing is indispensable for estimating the burden of active COVID-19 infections in epidemiologic surveys using a probability-based sample, the prevalence of disease assessed at a single time point can be predictive only for a limited time frame. Furthermore, such an approach has the limited potential to detect smaller focal outbreaks and is probably most appropriate in environment with low virus circulation. An additional limitation is that negative SARS-CoV-2 RNA testing result

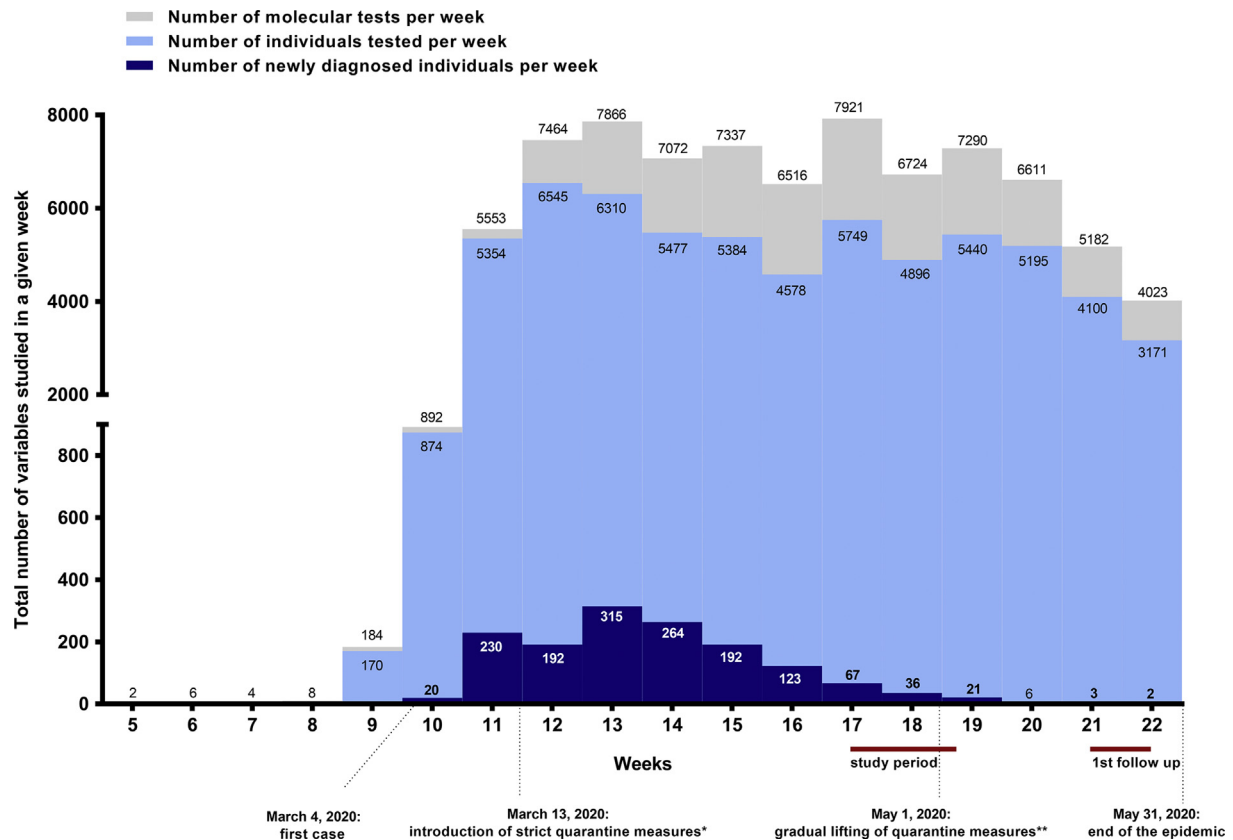


Fig. 2. Total number of molecular tests performed, individuals tested and newly diagnosed individuals with SARS-CoV-2 infection in a given week in the COVID-19 epidemic in Slovenia. On 4 March 2020, the first case of COVID-19 infection was confirmed in Slovenia. *As of 13 March 2020, strict quarantine measures were introduced, including closing the borders with neighbouring countries (Italy, Croatia, Austria and Hungary); closing preschools, primary schools, high schools and universities; shutdown of public transport; closure of all nonessential shops and services, including cancellation of nonessential medical procedures; and, later, restriction on movement outside one's municipality of residence. **The gradual lifting of quarantine measures started on 1 May 2020, with removal of restrictions on travel outside the municipality of residence, reopening all health and dental services, restarting public transport and reopening preschools and schools for selected age groups.

does not necessarily rule out COVID-19 if the sample is taken during a diagnostic window or in case of suboptimal quality of sampling. Lastly, nonrespondents could present potential limitation of our study. However, the study sample matched the population structure well, and weighting did not change the prevalence estimates. Additionally, for nonresponse bias, a content-specific missing data mechanism must exist linking participation with prevalence, and there is little evidence to support the assumption that persons who are more likely to be infected might also be more willing to participate. Thus, we believe that nonresponse bias in the present study is relatively small, and the study reliably estimated the true prevalence of active COVID-19 infection in Slovenia.

Properly designed and executed studies using probability-based sample combined with target-testing figures are extremely important for accurate and timely disease burden estimates and close monitoring of epidemic dynamics. They cannot be replaced by modeling studies and extensive testing campaigns using an open-invitation (nonprobability) sample. We believe that our study provides timely insight into the COVID-19 burden in the general population; our strategies may be considered a suitable alternative to more expensive large-scale testing campaigns using an open-invitation sample. The study results also confirmed the overall effectiveness of the timely, strict implementation of rigorous lockdown measures in Slovenia. The study contributed to the accurate prediction of disease dynamics and subsequent near disappearance of active cases in the following weeks. Only 37 new cases were identified in the entire country in the month after the study, despite

extensive testing (25 093 tests; average 810 tests per day; average 385 tests per day per million inhabitants) (Fig. 2).

On the basis of the favourable epidemiologic situation in the country, supported by the study results, mobility restrictions within the country were lifted on 1 May 2020, followed by gradual reopening of healthcare and dental services (9 May), reopening of public transport (11 May) and partial opening of preschools and schools (16 May). All of this ultimately led to Slovenia's being the first country in Europe to officially declare the end of the first wave of the epidemic as of 31 May 2020. With close follow-up of our cohort, coupled with ongoing, extensive routine and commercial testing in the following weeks (500 to 900 tests per day per million inhabitants), we hope to be able to closely monitor the epidemic dynamics in the coming months and predict possible COVID-19 recurrence in Slovenia, allowing us to remain alert and prepared to take the necessary preventive measures in a timely manner.

Transparency declaration

This work was funded by the Government of the Republic of Slovenia, the Institute of Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, University of Ljubljana, Slovenia, and the Slovenian Research Agency (grants P5-0399, P2-0209, P5-0410, P5-0151 and P3-0083). The funders had no role in the study design, data collection, analysis, interpretation of the results, writing of the

article or decision to submit the work for publication. All authors report no conflicts of interest relevant to this article.

Acknowledgements

We would like to thank all the participants in the study that accepted the invitation and volunteered to participate in the study. This study would not have been possible without the dedicated work of many people: the colleagues responsible for first-contact surveying of the participants and organization of sample collection: Mateja Škamperle, Tina Triglav, Barbara Šoba Šparl, Tjaša Cerar Kišek, Sabina Islamović, Anja Šterbenc, Mateja Pirš, Miša Pavletič, Karin Kregar and Ivana Velimirović; the fieldwork coordinators: Mateja Pirš, Anja Šterbenc, Lara Hudej, Grega Gimpelj Domjanič, Mitja Gajski, Tadej Pliberšek, Petra Hrvat, Jasmina Livk, Petra Čamernik, Nataša Krošelj, Tanja Kozinc, Polona Pretnar, Danijela Petrović, Maja Accetto Kos, Katka Pohar, Jana Boben and Rok Tomazin; the entire COVID-19 diagnostic team: Mateja Jelovšek, Robert Krošelj, Blanka Kušar, Katarina Resman Rus, Katja Strašek Smrdel, Maja Lunar, Marko Kolenc, Martin Sagadin, Monika Jevšnik Virant, Nina Žigon, Petra Markočič, Rok Kogoj, Tina Uršič and Urška Glinšek Biškup; the computer science students and teaching assistants that rapidly developed a data collection platform: Rafael Frančiček Irgolič, Robert Cvitkovič, Andrej Čopar, Gregor Krmelj, Nejc Debevč, Andreja Kovacič, Jaka Kokošar, Nejc Hirci, Tomaž Hočevar, Matjaž Pančur and Ajda Pretnar; the questionnaire reviewers: Lea Korva, Sabina Islamović and Jasmina Zlotrg; the longitudinal follow-up medical student team: Sara Ručigaj, Joanna Prusnik, Andrej Lipužič, Tanja Adamlje, Tjaša Pugelj, Boris Podobnik and Manca Bregar; and IT support: May Doušak. In addition, we would like to thank all the employees of the Institute of Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, University of Ljubljana, as well as healthcare workers of the Patient service and employees of the Episcenter call centre. We also thank the Statistical Office of the Republic of Slovenia for their help with the sample selection.

References

- [1] Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* 2020;395:497–506.
- [2] Zhou P, Yang XL, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* 2020;579:270–3.
- [3] Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med* 2020;382:727–33.
- [4] Lee VJ, Chiew CJ, Khong WX. Interrupting transmission of COVID-19: lessons from containment efforts in Singapore. *J Travel Med* 2020;27. taaa039.
- [5] Baker M, Kvalsvig A, Verrall AJ, Telfar-Barnard L, Wilson N. New Zealand's elimination strategy for the COVID-19 pandemic and what is required to make it work. *N Z Med J* 2020;133:10–4.
- [6] Cousins S. New Zealand eliminates COVID-19. *Lancet* 2020;395:1474.
- [7] Wang CJ, Ng CY, Brook RH. Response to COVID-19 in Taiwan: big data analytics, new technology, and proactive testing. *JAMA* 2020. <https://doi.org/10.1001/jama.2020.3151> [Online ahead of print].
- [8] Angulo FJ, Finelli L, Swerdlow DL. Reopening society and the need for real-time assessment of COVID-19 at the community level. *JAMA* 2020.
- [9] Poljak M, Korva M, Knap Gasper N, Fujs Komloš K, Sagadin M, Uršič T, et al. Clinical evaluation of the cobas SARS-CoV-2 test and a diagnostic platform switch during 48 hours in the midst of the COVID-19 pandemic. *J Clin Microbiol* 2020;58:e00599-20.
- [10] Stan Development Team. RStan: the R interface to Stan. R package version 2.19.1. Available at: <http://mc-stan.org>; 2019.
- [11] Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill* 2020;25:2000045.
- [12] World Health Organization. Population-based age-stratified seroepidemiological investigation protocol for COVID-19 virus infection. 17 March. Available at: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/331656/WHO-2019-nCoV-Seroepidemiology-2020.1-eng.pdf>; 2020.
- [13] Gudbjartsson DF, Helgason A, Jonsson H, Magnusson OT, Melsted P, Norddahl GL, et al. Spread of SARS-CoV-2 in the Icelandic population. *N Engl J Med* 2020;382:2302–15.
- [14] Sood N, Simon P, Ebner P, Eichner D, Reynolds J, Bendavid E, et al. Seroprevalence of SARS-CoV-2-specific antibodies among adults in Los Angeles county, California, on April 10–11, 2020. *JAMA* 2020.
- [15] Statistik Austria. COVID-19 Prävalenzstudie: maximal 0,15% der Bevölkerung in Österreich mit SARS-CoV-2 infiziert. 4 May. Available at: http://www.statistik.at/web_de/presse/123051.html; 2020.
- [16] SORA Studienberichte zur 1. SARS-CoV-2. Available at: <https://www.sora.at/nc/news-presse/news/news-einzelsicht/news/covid-19-praevalenz-1006.html>.
- [17] Beullens K, Matsuo H, Loosveldt G, Vandenplas C. Quality report for the European social survey. London: Eur Soc Surv ERIC 2014. Österreichische Bundesministerium. COVID-19 Studie. Available at: <https://www.bmbwf.gv.at/Themen/Forschung/Aktuelles/COVID-19-Studie.html>. Online ahead of print.
- [18] Snoeck CJ, Vaillant M, Abdelrahman T, Satagopam VP, Turner JD, Beaumont K, et al. Prevalence of SARS-CoV-2 infection in the Luxembourgish population—the CON-VINCE study. *medRxiv* 2020. 18 May.
- [19] Armstrong S. Research on COVID-19 is suffering 'imperfect incentives at every stage'. *BMJ* 2020;369:m2045.
- [20] Gopalakrishna G, Bouter L, Mayer T, Steneck N. Assuring research integrity during a pandemic. 8 June. Available at: <https://blogs.bmj.com/bmj/2020/06/08/assuring-research-integrity-during-a-pandemic/>; 2020.
- [21] Torres R, Rinder HM. Double-edged spike: are SARS-CoV-2 serological tests safe right now? *Am J Clin Pathol* 2020;153:709–11.
- [22] Abbasi J. The promise and peril of antibody testing for COVID-19. *JAMA* 2020;323:1881–3.
- [23] US Centers for Disease Control and Prevention. Interim guidelines for COVID-19 antibody testing. 23 May. Available at: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/resources/antibody-tests-guidelines.html>; 2020.
- [24] Weinstein MC, Freedberg KA, Hyle EP, Paltiel AD. Waiting for certainty on COVID-19 antibody tests—at what cost? *N Engl J Med* 2020.
- [25] CDC COVID-19 Response Team, Jordan MA, Rudman SL, Villarino E, Hoferka S, Patel MT, et al. Evidence for limited early spread of COVID-19 within the United States, January–February 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2020;69:680–4.