

Katarzyna Leszko<sup>1</sup>, Artur Sulik<sup>2</sup>, Beata Żelazowska-Rutkowska<sup>3</sup>

## SEROPREVALANCE OF ANTI-SARS-COV-2 ANTIBODIES IN THE IGG CLASS IN HOSPITALIZED CHILDREN IN THE NORTH-EASTERN PART OF POLAND IN 2021

### SEROPREWELENCJA PRZECIWCIAŁ ANTY-SARS-COV-2 W KLASIE IGG U DZIECI HOSPITALIZOWANYCH W PÓŁNOCNO-WSCHODNIEJ CZĘŚCI POLSKI W 2021 ROKU

<sup>1</sup>Department of Paediatric Laboratory Diagnostics, Children's University Hospital in Białystok  
Zakład Laboratoryjnej Diagnostyki Pediatrycznej, Uniwersytecki Dziecięcy Szpital Kliniczny w Białymstoku  
<sup>2</sup>Children's Observation and Infectious Diseases Clinic,  
Children's University Hospital in Białystok  
Klinika Obserwacyjno-Zakaźna Dzieci, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku  
<sup>3</sup>Department of Paediatric Laboratory Diagnostics, Medical University of Białystok  
Zakład Laboratoryjnej Diagnostyki Pediatrycznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

#### ABSTRACT

**INTRODUCTION.** In children, SARS-CoV-2 infection may manifest with symptoms of fever, cough, muscle pain, diarrhea or waste smell and taste. However, in most cases it is mild or asymptomatic. Determination of the level of anti-SARS-CoV-2 IgG antibodies in children enables to assess retrospectively the incidence of the SARS-CoV-2 infection among children.

**AIM OF THE STUDY.** The aim of the research was to analyze the results of anti-SARS-CoV-2 antibodies in the IgG class contained in children hospitalized in north-eastern Poland in 2021.

**MATERIAL AND METHODS.** The material for the study was venous blood collected once from children hospitalized in Children's University Hospital in Białystok in 2021. The results obtained from 615 children aged from 1 month to 11 years were analyzed. Determination of the level of antibodies was performed using the automated SARS-COV-2 IgG II test on the VIDAS® analyzer.

**RESULTS.** The analysis of the results of the anti-SARS-CoV-2 IgG value showed that half of children (52%, n=319) had contact with SARS-CoV-2 virus of which approximately 15% (n=47) had documented infection with this virus. There was no difference in the frequency of infections among boys and girls, antibodies were detected in 51% and 53%, respectively. The highest percentage of positive results was observed in children aged 7 to 10 years, 62% (91/147). The least children with a positive result were in the group below 1 year of age, 24% (4/17). High values of the antibody index (>15.00) were most often found among younger children, aged 1-2 years.

**CONCLUSIONS.** The presented results showed that infection with the SARS-CoV-2 virus does not depend on the sex of children but the value of anti-SARS-CoV-2 IgG antibodies decreased with the age of the child.

**Keywords:** COVID-19, children, anti-SARS-CoV-2 IgG antibodies

#### STRESZCZENIE

**WSTĘP.** U dzieci zakażenie SARS-CoV-2 może objawiać się gorączką, kaszlem, bólem mięśni, biegunką czy utratą węchu oraz smaku. Jednak w większości przypadków przebiega ono w sposób łagodny lub bezobjawowo. Oznaczanie poziomu przeciwciał przeciwko SARS-CoV-2 u dzieci, pozwala na ocenę występowania zakażeń SARS-CoV-2 wśród dzieci.

**CEL PRACY.** Celem pracy była analiza występowania przeciwciał anty-SARS-CoV-2 w klasie IgG u dzieci hospitalizowanych w północno-wschodniej Polsce w 2021 r.

**MATERIAŁ I METODY.** Materiałem do badań była krew żylna, pobrana jednorazowo od dzieci hospitalizowanych w Uniwersyteckim Dziecięcym Szpitalu Klinicznym w Białymstoku w 2021 r. Analizie poddano wyniki uzyskane od 615 dzieci w wieku od 1 miesiąca do 11 lat. Oznaczenie poziomu przeciwciał przeprowadzono za pomocą testu VIDAS® SARS-CoV-2 IgG II firmy bioMérieux na analizatorze VIDAS®.

**WYNIKI.** Analiza wyników badań przeciwciał anti-SARS-CoV-2 IgG wykazała, że ponad połowa badanych dzieci (52%; n=319) uległa zakażeniu wirusem SARS-CoV-2, z czego ok. 15% (n=47) miało potwierdzone/udokumentowane zakażenie tym wirusem. Nie zaobserwowano różnicy częstości zakażeń wśród chłopców i dziewczynek, przeciwciała wykryto u odpowiednio 51% i 53%. Największy odsetek dodatnich wyników zaobserwowano u dzieci w przedziale wieku od 7 do 10 roku życia, 62% (91/147). Najmniej dzieci z dodatnim wynikiem było w grupie poniżej 1 roku życia, 24% (4/17). Wysokie wartości indeksu przeciwciał (>15,00) najczęściej stwierdzano wśród młodszych dzieci, w wieku 1-2 lata.

**WNIOSKI.** W badaniu wykazano, że zakażenie wirusem SARS-CoV-2 nie zależy od płci dzieci, ale wraz z wiekiem dziecka wartość indeksu przeciwciał anti-SARS-CoV-2 IgG ulega obniżeniu.

**Słowa kluczowe:** COVID-19, dzieci, przeciwciała anti-SARS-CoV-2 IgG

## INTRODUCTION

In December 2019 in China were diagnosed the first patients suffering from severe viral pneumonia of unknown etiology. Detailed and specialized research allowed to identify a new virus - SARS-CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*) and the disease entity it causes was called COVID-19 (*Coronavirus Disease 2019*). The speed of spreading and high virulence of the virus leads to announcement by the World Health Organization (WHO) on March 11, 2020 pandemic (1).

The SARS-CoV-2 virus belonging to the RNA viruses consist of four basic structural proteins: Nucleocapsid (N), Membrane (M), Envelope (E) and Spike protein (S) (2-4). The S protein which forms projections on the surface of the virus is highly variable and is responsible for recognizing host receptors and binding to them through the receptor binding domain (RBD) (5-6).

According to scientific reports children and adolescents may be a reservoir for SARS-CoV-2 infections (7). In children, SARS-CoV-2 infection may manifest with symptoms of fever, cough, muscle pain, diarrhea or waste smell and taste. However, in most cases it is mild or asymptomatic (8). Determination of the level of antibodies in children enables to assess retrospectively the incidence of the disease among children. In addition, the determination of IgG antibodies against SARS-CoV-2 virus is one of the basic diagnostics elements in children with suspected multisystemic inflammatory syndrome associated with COVID-19 (PIMS-TS, *Pediatric Inflammatory Multisystem Syndrome Temporarily associated with SARS-CoV-2*) and in patients with a negative PCR test result for the presence of SARS-CoV-2 virus (9). This syndrome may occur in children 2-4 weeks after infection. Its course may be rapid with severe and permanent complications, e.g. cardiological, and in some cases it may even lead to death. In laboratory tests, PIMS-TS may be associated with increased values of inflammatory parameters: CRP above 100

## WSTĘP

W grudniu 2019 r., w Chinach, zdiagnozowano pierwszych pacjentów cierpiących na ciężkie wirusowe zapalenie płuc o nieznaną dotąd etiologię. Szczegółowe i specjalistyczne badania pozwoliły na zidentyfikowanie nowego wirusa – SARS-CoV-2 (ang. *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*), a jednostkę chorobową, którą wywołuje nazwano COVID-19 (ang. *Coronavirus Disease 2019*). Szybkość rozprzestrzenienia się i wysoka zjadliwość wirusa doprowadziły do ogłoszenia przez Światową Organizację Zdrowia (WHO, ang. *World Health Organization*) w dniu 11 marca 2020 r. pandemii (1).

Wirus SARS-CoV-2 należący do wirusów RNA składa się z czterech podstawowych białek strukturalnych: nukleokapsydu (N, ang. *Nucleocapsid*), błony (M, ang. *Membrane*), otoczki (E, ang. *Envelope*) oraz białka kolca (S, ang. *Spike*) (2-4). Białko S, które tworzy wypustki znajdujące się na powierzchni wirusa, charakteryzuje się dużą zmiennością i jest odpowiedzialne za rozpoznawanie receptorów gospodarza oraz łączenie się z nimi za pomocą domeny RBD (ang. *receptor binding domain*) (5, 6).

Według doniesień naukowych dzieci oraz młodzież mogą stanowić rezerwuar dla zakażeń wirusem SARS-CoV-2 (7). U dzieci zakażenie SARS-CoV-2 może przebiegać z objawami gorączki, kaszlu, bólu mięśni, biegunki, bólu gardła, utraty węchu i smaku. U większości jednak przebiega ono w sposób łagodny lub bezobjawowo (8). Oznaczanie poziomu przeciwciał u dzieci pozwala na retrospektywną ocenę występowania zakażeń wśród dzieci. Ponadto oznaczenie przeciwciał w klasie IgG przeciwko wirusowi SARS-CoV-2 zaliczane jest do podstawowych elementów diagnostyki u dzieci z podejrzeniem wieloukładowego zespołu zapalnego powiązanego z COVID-19 (PIMS-TS, ang. *Paediatric Inflammatory Multisystem Syndrome Temporarily associated with SARS-CoV-2 Infection*) oraz u pacjentów, u których otrzymano ujemny wynik testu PCR na obecność wirusa SARS-CoV-2 (9). Zespół ten może wystąpić u dzieci po 2-4 tygodniach od zakażenia. Jego przebieg może być gwałtowny, z ciężkimi i trwałymi powikłaniami

mg/l, troponin, and with anemia, hyponatremia, and decreased albumin levels (10).

Tests detecting the genetic material of the virus (mainly RT-PCR methods) and rapid tests determining its protein antigens (9). Serological tests enable to detect antibodies against the SARS-CoV-2 virus and more specifically, antibodies produced against the N protein or the S protein receptor binding domain. When past SARS-CoV-2 infection is suspected it is recommended to test anti-SARS-CoV-2 antibodies in the IgG class, which may appear 14 days after the infection. Serological tests can also be used to assess the immuneresponse to vaccination (9, 11, 12).

#### AIM OF THE STUDY

The aim of the research was to analyze the results of anti-SARS-CoV-2 antibodies in the IgG class contained in children hospitalized in a clinical hospital in the Podlaskie Voivodeship in 2021.

#### MATERIAL AND METHOD

An analysis of the results of anti-SARS-CoV-2 IgG antibody tests was carried out in a group of 615 patients aged 1 month to 11 years. They were patients of four different departments (Observation and Infectious Diseases Clinic, Paediatrics Clinic, Oncology and Hematology Clinic, Pediatrics Clinic with the Pulmonology Department), hospitalized from January 1, 2021 until December 15, 2021, mainly due to upper respiratory tract infections. Upon admission to the clinic, all children had a swab for COVID-19 infection, and in children with a negative test result, blood was additionally taken to determine anti-SARS-CoV-2 antibodies.

In Poland, the possibility of vaccinating children from the age of 5 was introduced on December 16, 2021 (13), therefore, in order to eliminate the post-vaccine positive results of anti-SARS-CoV-2 IgG antibodies tests, only the test results obtained before December 15, 2021 were analyzed. During the current hospitalization a thorough medical history was taken, in which the previous antigen or PCR test for SARS-CoV-2 infection test were recorded.

Venous blood sample (1.2 ml) were taken once, in the morning at the pediatric clinic. The blood was allowed to clot completely at room temperature and was centrifuged to obtain the serum (centrifugation at 3.500g x for 5 minutes). Determination of the level of antibodies was performed using the automated VIDAS® SARS-COV-2 IgG II test by *bioMérieux* on the VIDAS® analyzer. It is a semi-quantitative test using the *Enzyme Linked Fluorescent Assay* (ELFA) method. This test is used to detect immunoglobulin G (IgG) in serum

np. kardiologicznymi, a w niektórych przypadkach, może dochodzić nawet do śmierci. W laboratoryjnych badaniach PIMS-TS może przebiegać z podwyższonymi wartościami parametrów stanu zapalnego: CRP powyżej 100mg/l, troponiny oraz z niedokrwistością, hiponatremią, obniżonym poziomem albuminy (10).

Do diagnostyki zakażenia SARS-CoV-2 wykorzystywane są testy wykrywające materiał genetyczny wirusa (głównie metody RT-PCR) oraz szybkie testy oznaczające jego białkowe antygeny (9). Badania serologiczne pozwalają na wykrywanie przeciwciał przeciwko wirusowi SARS-CoV-2, a dokładniej przeciwciał wytwarzanych przeciwko białku N lub domenie wiążącej receptor białka S. Przy podejrzeniu przebytego zakażenia SARS-CoV-2 zaleca się badanie przeciwciał anti-SARS-CoV-2 w klasie IgG, które mogą pojawić się po 14 dniach od zakażenia. Badania serologiczne mogą służyć również do oceny odpowiedzi immunologicznej na szczepienie (9, 11, 12).

#### CEL PRACY

Celem podjętych badań było przeprowadzenie analizy wyników badań przeciwciał anti-SARS-CoV-2 w klasie IgG u dzieci hospitalizowanych w 2021 r. w szpitalu klinicznym w województwie podlaskim.

#### MATERIAŁ I METODA

Przeprowadzono analizę wyników badań przeciwciał anti-SARS-CoV-2 IgG w grupie liczącej 615 pacjentów w wieku od 1 miesiąca do 11 lat. Badanie zostało wykonane w oparciu o wyniki badań pacjentów Uniwersyteckiego Dziecięcego Szpitala Klinicznego w Białymstoku. Byli to pacjenci czterech różnych oddziałów (Kliniki Obserwacyjno-Zakaźnej, Kliniki Pediatrii, Kliniki Onkologii i Hematologii, Kliniki Pediatrii z Pododdziałem Pulmonologii), hospitalizowani w okresie od 01.01.2021 r. do 15.12.2021 r., głównie z powodu infekcji górnych dróg oddechowych. Przy przyjęciu do kliniki wszystkie dzieci miały wykonany wymaz w kierunku zakażenia wirusem COVID-19, a u dzieci z ujemnym wynikiem testu dodatkowo pobierano krew w celu oznaczenia przeciwciał anti-SARS-CoV-2.

Od 16.12.2021 r., w Polsce, została wprowadzona możliwość szczepienia dzieci od 5 roku życia (13), dlatego też w celu eliminacji dodatnich wyników badań przeciwciał anti-SARS-CoV-2 IgG poszczepiennych, analizie poddano tylko wyniki badań wykonane przed 16.12.2021 r. Podczas bieżącej hospitalizacji przeprowadzono dokładny wywiad lekarski w którym odnotowywano wcześniejsze wykonanie testu antygenowego lub PCR w kierunku zakażenia wirusem SARS-CoV-2 oraz wynik wcześniejszego testu.

specific for the RBD domain of SARS-CoV-2 protein S. The test result is expressed in the index. A value of  $<1.00$  is considered a negative result and a positive result  $\geq 1.00$ . According to the manufacturer's data, based on the first international WHO standard for antibodies to SARS-CoV-2 virus, the test cut-off result (index = 1.00) was estimated as 20.33 BAU/ml (14).

The research was approved by the Bioethical Committee of Medical University of Białystok No. APK.002.242.2022.

## RESULTS

The results of anti-SARS-CoV-2 IgG antibodies obtained in 615 children (275 girls and 340 boys) were analyzed. Children aged 2 and 4 were the most numerous group (89 children), and 11-year-olds were the smallest (12 children) (Fig. 1). More than half of all examined children (52%;  $n=319$ ) had a positive result of anti-SARS-CoV-2 antibodies in the IgG class. No significant differences in the presence of antibodies were observed in children with regard to the gender (Table 1).

The highest percentage of positive antibodies was observed in children between the ages of 7 and 10. Positive test results were obtained in 60% ( $n=29$ ), 64% ( $n=18$ ), 64% ( $n=27$ ) and 59% ( $n=17$ ) in a given age group, respectively. The fewest positive test results were found in children under one year of age – 24% (4/17).

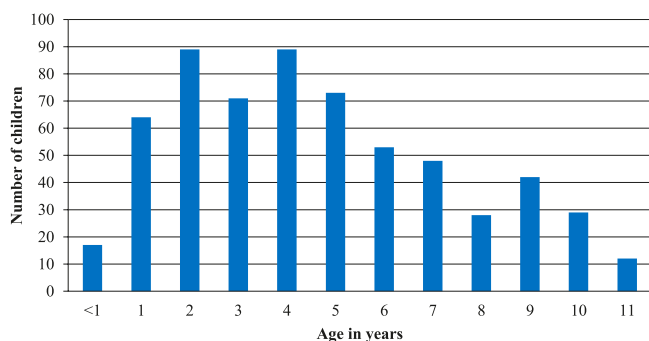


Figure 1. The number of children included in the study by age

Rycina 1. Liczba dzieci uwzględnionych w badaniu, według wieku

Materiałem do badań była krew żylna pobrana do probówki o objętości 1,2 ml bez obecności antykoagulantu. W celu uzyskania surowicy probówki wirowano 5 min. przy obrotach wirówki 3 500x g. Oznaczenie poziomu przeciwciał przeprowadzono za pomocą zautomatyzowanego testu VIDAS® SARS-COV-2 IgG II firmy bioMérieux na analizatorze VIDAS®. Jest to badanie półilościowe z wykorzystaniem metody enzymoimmunofluorescencyjnej (ELFA, ang. *Enzyme Linked Fluorescent Assay*). Test ten służy do wykrywania w surowicy immunoglobuliny klasy G (IgG) specyficznej dla domeny RBD białka S wirusa SARS-CoV-2. Wynik badania wyrażany jest w indeksie. Za wynik ujemny uznaje się wartość  $<1,00$ , a za dodatni  $\geq 1,00$ . Według danych producenta, na podstawie pierwszego międzynarodowego standardu WHO dla przeciwciał przeciwko wirusowi SARS-CoV-2 wynik odcięcia testu (indeks = 1,00), oszacowano jako wartość równą 20,33 BAU/ml (14).

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku o nr. APK.002.242.2022.

## WYNIKI

Analizie poddano wyniki badań przeciwciał anti-SARS-CoV-2 IgG uzyskanych u 615 dzieci (275 dziewczynek i 340 chłopców). Najliczniejszą grupę stanowiły dzieci w wieku 2 i 4 lat (po 89 dzieci), a najmniej liczną 11-latkowie (12 dzieci) (Ryc. 1).

Dodatni wynik przeciwciał anti-SARS-CoV-2 w klasie IgG uzyskano w ponad połowie wszystkich badanych próbek (52%;  $n=319$ ). Nie obserwowano istotnych różnic w występowaniu przeciwciał u dzieci w podziale na płeć (Tabela 1).

Największy odsetek dodatnich wyników zaobserwowano u dzieci w przedziale wiekowym od 7 do 10 roku życia. W kolejnych rocznikach tej grupy wiekowej dodatni wynik testu uzyskano u 60% ( $n=29$ ), 64% ( $n=18$ ), 64% ( $n=27$ ) i 59% ( $n=17$ ). Najniższy odsetek dodatnich wyników testu zaobserwowano u dzieci poniżej pierwszego roku życia, 24% (4/17). W pozostałych grupach wiekowych odsetek wyników dodatnich wahał się w granicach od 42 do 55% (Ryc. 2).

Table 1. The results of anti-SARS-CoV-2 IgG antibodies in the group of the study children

Tabela 1. Wyniki przeciwciał anti-SARS-CoV-2 IgG w grupie badanych dzieci

	Number of respondents	Negative test result of anti-SARS-CoV-2 IgG antibodies index $< 1.00$	Positive test result of anti-SARS-CoV-2 IgG antibodies index $\geq 1.00$
Whole study group	615	296 (48%)	319 (52%)
girls	275 (45%)	128 (47%)	147 (53%)
boys	340 (55%)	168 (49%)	172 (51%)



In the remaining age groups, these differences were not significant and ranged from 42% to 55% (Fig. 2).

The percentage of positive results of anti-SARS-CoV-2 antibodies among patients hospitalized in the following months of 2021 are presented in Fig. 3.

The positive result of anti-SARS-CoV-2 antibodies was most frequently determined in the range of the index value from  $\geq 1.00$  to 5.00, which accounted for about 33% (104/319) of children with a positive test result. Subsequent ranges of the values of antibodies were between  $\geq 5-10$ , which constituted 26% (83/319), while 15% (49/319) of the results were in the range  $\geq 10-15$ , and 26% (83/319) of the tests obtained had an index value above 15 (Fig. 4).

The five most numerous groups of patients (1-5 years) were also analyzed. The highest percentage of children with an antibody index value above 15.00 was found in patients aged 1 to 2 years. It was also observed that the percentage of children with the highest antibody index decreased with age (Fig. 5).

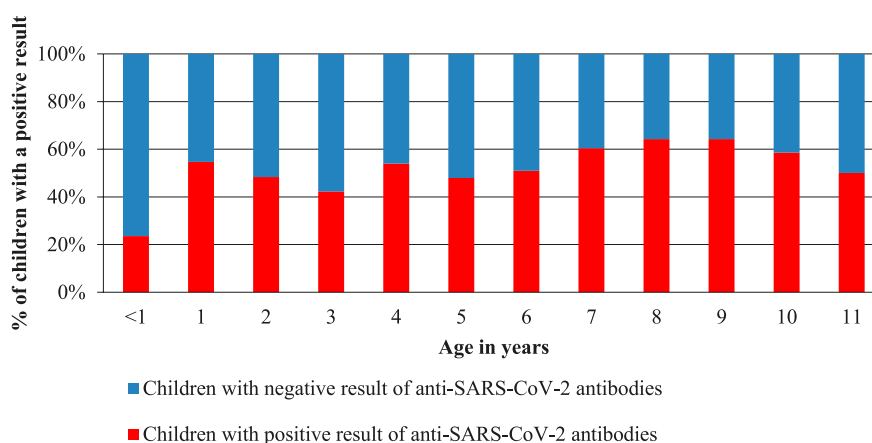


Figure 2. Result of anti-SARS-CoV-2 antibodies in individual age groups

Rycina 2. Wynik badania przeciwciał anty-SARS-CoV-2 w poszczególnych grupach wieku

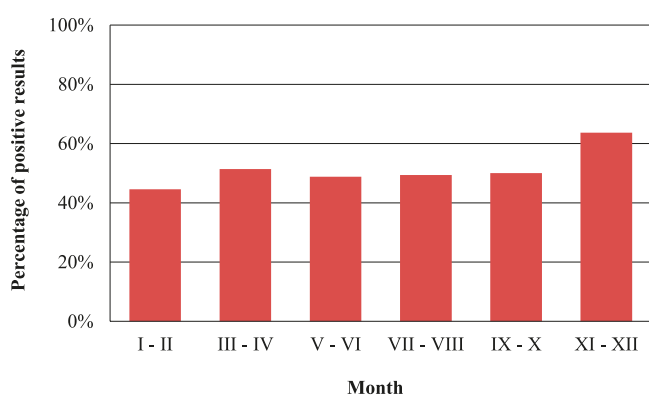


Figure 3. The percentage of positive results of anti-SARS-CoV-2 antibodies among hospitalized patients in the following months of 2021

Rycina 3. Odsetek dodatnich wyników przeciwciał anty-SARS-CoV-2 wśród pacjentów hospitalizowanych w kolejnych miesiącach 2021 r.

Odsetek dodatnich wyników przeciwciał anty-SARS-CoV-2 wśród pacjentów hospitalizowanych w kolejnych miesiącach 2021 r. przedstawiono na Rycinie 3.

Najczęściej dodatni wynik przeciwciał anty-SARS-CoV-2 mieścił się w zakresie wartości indeksu od  $\geq 1,00$  do 5,00, co stanowiło 33% (104/319) osób z pozytywnym wynikiem testu. Kolejne przedziały wartości przeciwciał zawarte były pomiędzy  $\geq 5-10$ , co stanowiło 26% (83/319). 15% (49/319) wyników mieściło się w przedziale  $\geq 10-15$ , a w 26% (83/319) uzyskanych wyników wartość indeksu wynosiła powyżej 15 (Ryc. 4).

Przeanalizowano również pięć najbardziej licznych grup dzieci (od 1 roku do 5 lat). Największy odsetek dzieci z wartością indeksu przeciwciał o wartości powyżej 15,00 wykazano u dzieci w wieku od 1 do 2 roku życia. Zaobserwowano również, że wraz z wiekiem odsetek dzieci z najwyższym indeksem przeciwciał spada (Ryc. 5).

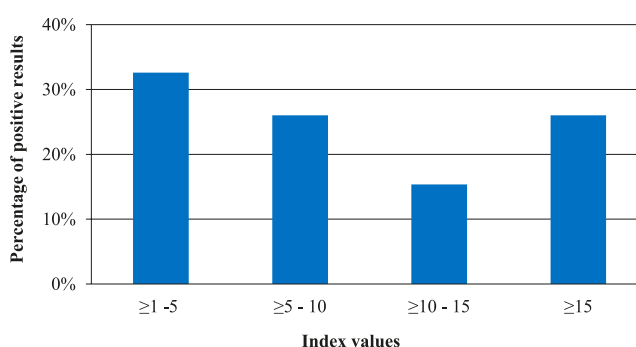


Figure 4. Index values in children with positive anti-SARS-CoV-2 antibodies.

Rycina 4. Wartości indeksu przeciwciał u dzieci z dodatnimi wynikami przeciwciał anty-SARS-CoV-2

Additionally, the results of all children with a positive antibody index were averaged in the whole study group. Due to the low size of the groups, the values of children under the age of one and children aged 11 were rejected. On the basis of the results obtained, it was observed that the value of the antibody index decreased that with the age of the child (Fig. 6). The conducted statistical analysis showed a negative correlation between the antibodies index value and the age of the children.

In addition, in the patients' histories, 61 patients (10% of the entire study group) had a documented positive antigen test or PCR test confirming infection

Dodatkowo w grupie dzieci z wynikami dodatni- mi obliczono średnią wartość indeksu przeciwciał dla każdej grupy wieku (rocznika). Ze względu na niską liczebność grup dzieci poniżej pierwszego roku życia oraz dzieci w wieku 11 lat, do obliczeń statystycznych nie były brane pod uwagę. Na podstawie uzyskanych wyników zaobserwowano, że wraz z wiekiem dziecka wartość indeksu przeciwciał maleje (Ryc. 6). Przeprowadzona analiza statystyczna wykazała ujemną korelację pomiędzy wartością indeksu przeciwciał a wiekiem dzieci.

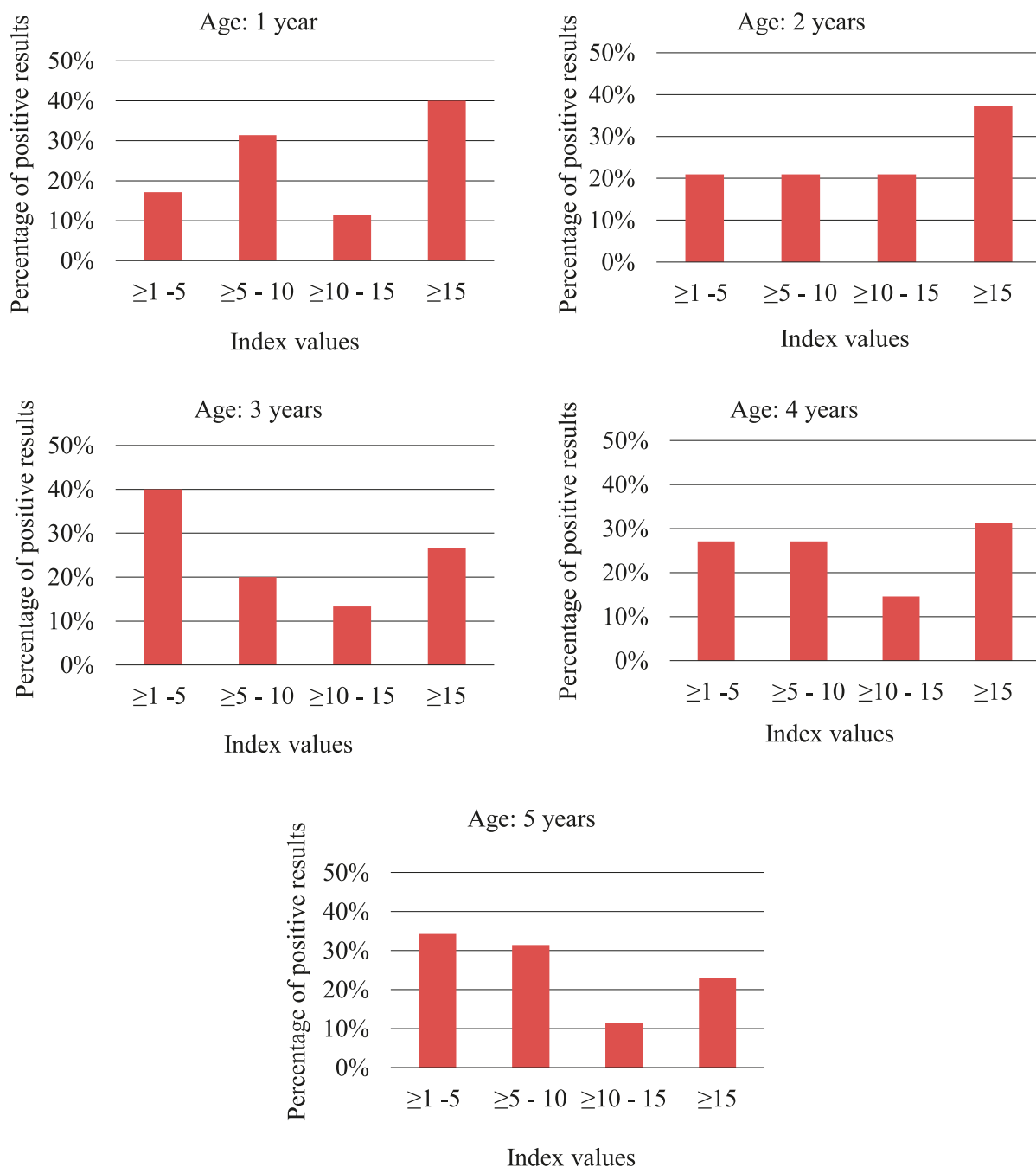


Figure 5. Index values in selected age groups in children with positive anti-SARS-CoV-2 antibodies

Rycina 5. Wartości indeksu przeciwciał w wybranych grupach wiekowych u dzieci z dodatnimi wynikami przeciwciał anty-SARS-CoV-2

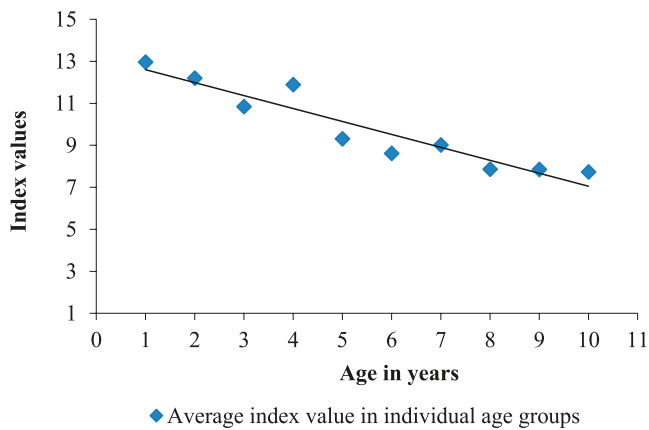


Figure 6. Average value of a positive antibody index result by age

Rycina 6. Średnia wartość indeksu przeciwciał dodatnich wyników testu według wieku

with the SARS-CoV-2 virus in the period from 3 weeks to 2 months before hospitalization. Among the patients with a positive antibody index, 47 children had previously had a confirmed infection with the virus (approx. 15% of all positive results). In 14 children diagnosed with SARS-CoV-2 infection, anti-SARS-CoV-2 IgG antibodies determined in the same period were negative. These results may indicate an early stage of SARS-CoV-2 infection.

Among children in whom infection with the SARS-CoV-2 virus had not been documented, approximately 49% (271/554) of children had a positive value of the index while 51% (283/554) were negative.

## DISCUSSION

The first reports of SARS-CoV-2 infections were focused mainly on the assessment of its infectivity. Their data indicated a low percentage of children suffering from COVID-19, and the conclusions suggested that children were less likely to be infected with SARS-CoV-2 compared to adults (15-17). Due to a mild or asymptomatic course of the disease in children, the statistics were mainly based on the patients' examinations with clear clinical symptoms. Therefore, they do not fully reflect the number of patients (both adults and children) who were exposed to the SARS-CoV-2 virus. Only the serological tests carried out make it possible to initially estimate the incidence of COVID-19 disease in children. There are very few publications available on the assessment of the level of anti-SARS-CoV-2 antibodies in children in Poland. The studies that were conducted focused mainly on adults. Several literature reports on seroprevalence among children in other European countries were found in bibliographic databases. Unfortunately, the available publications

Dodatkowo w historii 61 pacjentów (10% całej grupy badanej), udokumentowany został dodatni wynik testu antygenowego lub PCR, potwierdzający zakażenie wirusem SARS-CoV-2 w okresie od 3 tygodni do 2 miesięcy przed hospitalizacją. Wśród osób z dodatnim indeksem przeciwciał, liczba dzieci, które wcześniej miały potwierdzone zakażenie wirusem wynosiła 47 (15% wszystkich dodatnich wyników). U 14 dzieci, u których zdiagnozowano zakażenie wirusem SARS-CoV-2 oznaczone w tym samym czasie przeciwciała anti-SARS-CoV-2 IgG, wykazały wynik negatywny. Wyniki te mogą wskazywać na wczesny etap zakażenia wirusem SARS-CoV-2.

Wśród pacjentów, u których nie zostało udokumentowane zakażenie wirusem SARS-CoV-2, u 49% (271/554) wynik badania przeciwciał był dodatni, a u 51% (283/554) uzyskano wynik negatywny.

## DYSKUSJA

Pierwsze doniesienia dotyczące zakażeń wirusem SARS-CoV-2 skupiały się głównie na ocenie jego zakaźności. Zawarte w nich dane wskazywały na niski odsetek dzieci chorych na COVID-19, a przedstawiane w nich wnioski sugerowały, że dzieci są mniej narażone na zakażenie wirusem SARS-CoV-2 w porównaniu do osób dorosłych (15-17). Łagodny lub bezobjawowy przebieg choroby u dzieci spowodował, że statystyki oparte były głównie na badaniach osób z wyraźnymi objawami klinicznymi. Dlatego też dane te nie w pełni odzwierciedlały liczby osób (zarówno dorosłych jak i dzieci), które uległy zakażeniu wirusem SARS-CoV-2. Dopiero przeprowadzone badania serologiczne umożliwiają wstępne oszacowanie częstości występowania zakażeń SARS-CoV-2 u dzieci.

Istnieje bardzo mała liczba dostępnych publikacji dotyczących oceny poziomu przeciwciał anti-SARS-CoV-2 u dzieci na terenie Polski. Badania jakie były wcześniej przeprowadzane skupiały się głównie na osobach dorosłych. W bazach bibliograficznych udało się odszukać kilka doniesień literaturowych dotyczących seroprewalencji wśród dzieci w innych krajach europejskich. Niestety dostępne publikacje oparte były głównie na badaniach przeprowadzonych w 2020 r. lub w pierwszym kwartale 2021 r.

Na przełomie czerwca i lipca 2020 r. w województwie mazowieckim przeprowadzono badanie oceny poziomu przeciwciał wśród pracowników służb mundurowych. Tylko u 4% osób badanych stwierdzono obecność przeciwciał w klasie IgG anti-SARS-CoV-2 (18). Większy odsetek osób seropozytywnych odnotowano wśród mieszkańców województwa śląskiego (19). Badania, które zostały przeprowadzone w miesiącach październik-listopad 2020 r. wykazały obecność przeciwciał IgG anti-SARS-CoV-2 u 11,4% osób. Po

were based mainly on the research conducted in 2020, or in the first quarter of 2021.

At the turn of June and July 2020, the study to assess the level of antibodies among the employees of uniformed services was carried out in the Mazowieckie Voivodeship. Only 4% of the respondents had anti-SARS-CoV-2 IgG antibodies (18). A higher percentage of seropositive people was recorded among the inhabitants of the Śląskie Voivodeship (19). The study carried out in October-November 2020 showed the presence of IgG anti-SARS-CoV-2 antibodies in 11.4% of people. After the division into the patient's age, 2.9% had a positive antibody level in the group of children from 0 to 6 years of age, whereas 11.9%, in the group of children from 7 to 14 years of age (19). According to our study that covered the period from January to December 2021, the presence of antibodies in children of a similar age range was found in 53% of children. The percentage of children with positive antibody results was 49% in children 0-6 years old, and 61% in children aged 7-11 years. A higher percentage of serum-positive children in the 7-11 age group may be associated with attending primary schools in this group of children, and thus a greater contact with peers who could be potentially infectious.

The studies conducted in May 2021 in Wrocław in patients over 17 years of age showed that 35.5% of patients were positive for IgG anti-SARS-CoV-2 antibodies among people who were previously infected with the virus (20). In our research, among children in whom infection with SARS-CoV-2 virus was not documented, almost 49% proved to be positive for the presence of antibodies.

Studies evaluating seroprevalence among children hospitalized in the period from June 1, 2021 to April 30, 2022 at the Provincial Observation and Infectious Hospital in Bydgoszcz showed the presence of antibodies in 57% of the children tested. Most often, these antibodies were determined among children aged 3 to 5 years (21). In own research, the presence of antibodies was found in 52%, and the presence of antibodies was most often found in children aged 7 to 10 years. In addition, 10% of patients had documented SARS-CoV-2 infection in the past.

Publications from other European countries presented similar research results. In 2020, there was a low percentage of children who tested positive for antibodies. The study on the prevalence of antibodies among hospitalized children at the Children's Hospital in Zagreb, Croatia covered two periods. The first period from 13 to 29 May 2020 and the second from 24 October to 23 November 2020. The percentage of positive results in the first time point was 2.9%, and in the second – 8.4%, of which during the first stage of the study all children with antibodies were asymptomatic, and in the second

uwzględnieniu wieku badanych, w grupie dzieci od 0 do 6 roku życia u 2,9% stwierdzono dodatni wynik przeciwciał, zaś w grupie dzieci od 7 do 14 roku odsetek ten wyniósł 11,9% (19). Według naszych badań, które obejmowały okres od stycznia do grudnia 2021 r., występowanie przeciwciał u dzieci w podobnym przedziale wiekowym stwierdzano u 53% dzieci. Odsetek dzieci z pozytywnym wynikiem przeciwciał wyniósł w grupie dzieci 0-6 lat 49%, a u dzieci w wieku 7-11 lat – 61%. Wyższy odsetek seropozytywnych dzieci w grupie 7-11 lat może być związany z uczęszczaniem tej grupy dzieci do szkół podstawowych, a co za tym idzie, większym kontaktem z rówieśnikami, którzy mogli być potencjalnie zakażeni.

Badania przeprowadzone w maju 2021 r. we Wrocławiu u pacjentów powyżej 17 roku życia wykazały, że wśród osób, u których wcześniej nie stwierdzono zakażenia wirusem, 35,5% pacjentów posiadało dodatni wynik przeciwciał anty-SARS-CoV-2 klasy IgG (20). W naszych badaniach, wśród dzieci u których nie zostało udokumentowane zakażenie wirusem SARS-CoV-2 prawie 49% miało dodatni wynik badania w kierunku obecności przeciwciał IgG.

Badania oceniające seroprewalencję wśród dzieci hospitalizowanych w okresie od 1 czerwca 2021 roku do 30 kwietnia 2022 roku w Wojewódzkim Szpitalu Obserwacyjno-Zakaźnym w Bydgoszczy wykazały obecność przeciwciał u 57% badanych dzieci. Najczęściej przeciwciała te były oznaczane wśród dzieci w wieku od 3 do 5 lat (21). W badaniach własnych obecność przeciwciał wykazano u 52%, a najczęściej stwierdzano obecność przeciwciał u dzieci w wieku od 7 do 10 lat. Dodatkowo, u 10% pacjentów udokumentowano w przeszłości zakażenie wirusem SARS-CoV-2.

Publikacje pochodzące z innych krajów europejskich prezentowały podobne wyniki badań. W roku 2020 odnotowywano niskie odsetki dzieci z pozytywnym wynikiem badania przeciwciał. Jednym z nich było badanie dotyczące częstości występowania przeciwciał wśród dzieci hospitalizowanych w Dziecięcym Szpitalu w Zagrzebiu w Chorwacji i obejmowało dwa okresy. Pierwszy od 13 do 29 maja 2020 r., a drugi od 24 października do 23 listopada 2020 r. Odsetek wyników pozytywnych w pierwszym punkcie czasowym wynosił 2,9%, zaś w drugim – 8,4%, z czego podczas pierwszego etapu badań wszystkie dzieci posiadające przeciwciała były bezobjawowe, a w drugim etapie u 70% dzieci obserwowano objawy zakażenia wirusem (22). Podobne badania obejmujące trzy przedziały czasowe zostały przeprowadzone w Szpitalu w Erlangen w Niemczech. Pierwszy obejmował okres od połowy października do połowy listopada 2020 r., drugi – kwiecień 2021 r., a trzeci od połowy czerwca do połowy lipca 2021 r. Seroprewalencja u pacjentów wyniosła odpowiednio: 1,38%; 9,16% i 14,59% (23).



stage 70% of children had symptoms of virus infection (22). Similar studies covering three time intervals were carried out at the Hospital in Erlangen, Germany. The first covered from mid-October to mid-November 2020, the second – April 2021 while the third one from mid-June to mid-July 2021. Patients' seroprevalence was 1.38%, 9.16% and 14.59%, respectively (23).

Conducted by A. Rostami et al., analysis of publications that appeared between January 2020 and March 2021 included studies from 60 different countries. The authors showed that children and adolescents had a similar seroprevalence as adults (aged 20 to 64 years). Further analysis of the results made it possible to draw conclusions that children may be at the same risk of infection with the SARS-CoV-2 virus as adults (24).

In summary, the study results described in the publications show a significantly lower percentage of children and adults with positive antibody results compared to the results of our study. The differences mentioned above mainly result from the time interval in which individual tests were performed. It is noteworthy that at present there is a small number of available publications describing the occurrence of anti-SARS-CoV-2 antibodies in children, and their results show that children are also susceptible to COVID-19 infections like adults. Due to the milder course of infections in children, they are detected in a much lower percentage.

Analysis of antibodies and the dynamics of their occurrence in children may contribute to better understanding the immune response as well as undertaking better measures to prevent the spread of this virus.

## CONCLUSIONS

The analysis of the results of the anti-SARS-CoV-2 IgG index value carried out in children diagnosed in hospital showed that half of children got infected with SARS-CoV-2 virus of which approx. 15% had previously documented infection with this virus. A low percentage of patients with the detected SARS-CoV-2 virus infection among children with anti-SARS-CoV-2 antibodies may indicate mild or asymptomatic infection. The presented analysis of the research results showed that infection with the SARS-CoV-2 virus does not depend on the gender of children, while the value of the anti-SARS-CoV-2 IgG antibodies decreases with the child's age.

## REFERENCES

1. WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11 March 2020. [Internet] Available from: [www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s](http://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s)

Przeprowadzona przez A. Rostami i wsp. analiza publikacji, które ukazały się pomiędzy styczniem 2020 r., a marcem 2021 r. uwzględniała badania pochodzące z 60 różnych krajów. Autorzy wykazali, że dzieci i młodzież charakteryzują się podobną seroprewalencją jak osoby dorosłe (w wieku od 20 do 64 lat). Dalsza analiza wyników umożliwiła wyciągnięcie wniosków, że dzieci mogą być w takim samym stopniu narażone na zakażenie wirusem SARS-CoV-2 jak osoby dorosłe (24).

Podsumowując, wyniki zawarte we wcześniejszych publikacjach wskazują na znacznie niższy odsetek dzieci jak i dorosłych z dodatnim wynikiem przeciwciał w porównaniu z wynikami naszych badań. Powyższe różnice wynikają głównie z przedziału czasu, w którym przeprowadzane były poszczególne badania. Na uwagę zasługuje fakt, że w chwili obecnej istnieje mała liczba dostępnych publikacji opisujących występowanie przeciwciał anty-SARS-CoV-2 u dzieci, a ich wyniki wskazują, że dzieci są równie podatne na zakażenia SARS-CoV-2 co osoby dorosłe. W związku z łagodniejszym przebiegiem zakażenia u dzieci są wykrywane w znacznie niższym odsetku.

Analiza dynamiki występowania przeciwciał u dzieci mogłaby pomóc w lepszym zrozumieniu odpowiedzi immunologicznej podczas zakażenia, a także pomóc w podejmowaniu środków zapobiegających rozprzestrzenianiu się wirusa.

## WNIOSKI

Przeprowadzona analiza wyników badania przeciwciał anty-SARS-CoV-2 IgG u dzieci diagnozowanych w szpitalu wykazała, że ponad połowa dzieci uległa zakażeniu wirusem SARS-CoV-2, z czego ok. 15% miało potwierdzone/udokumentowane wcześniej zakażenie tym wirusem. Niski odsetek pacjentów z wykrytym zakażeniem SARS-CoV-2 wśród dzieci, u których stwierdzono obecność przeciwciał anty-SARS-CoV-2 może wskazywać na łagodny lub bezobjawowy przebieg zakażenia. Przedstawiona analiza wyników badań wykazała, że zakażenie wirusem SARS-CoV-2 nie zależy od płci dzieci, natomiast wraz z wiekiem dziecka wartość indeksu przeciwciał anty-SARS-CoV-2 IgG maleje.

- 
- opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020
  2. Sofi MS, Hamid A, Bhat SU. SARS-CoV-2: A critical review of its history, pathogenesis, transmission, diagnosis and treatment. *Biosaf Health* 2020;2:217-225.doi: 0.1016/j.bshealth.2020.11.002.
  3. Arya R, Kumari S, Pandey B, et al. Structural insights into SARS-CoV-2 proteins. *J Mol Biol* 2021;433:166725. doi: 10.1016/j.jmb.2020.11.024.

4. Astuti I, Ysrafi I. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2): An overview of viral structure and host response. *Diabetes Metab Syndr* 2020;14:407-412. doi: 10.1016/j.dsx.2020.04.020.
5. Satarker S, Nampoothiri M. Structural Proteins in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2. *Arch Med Res* 2020;51:482-491. doi: 10.1016/j.arcmed.2020.05.012.
6. Ashraf UM, Abokor AA, Edwards JM, et al. SARS-CoV-2, ACE2 expression, and systemic organ invasion. *Physio 1 Genomics* 2021;53:51-60. doi:10.1152/physiolgenomics.00087.2020.
7. Götzinger F, Strenger V. The Role of Children and Young People in the Transmission of SARS-CoV-2. *Pediatr Infect Dis J* 2022;41(4):e172-e174. doi: 10.1097/INF.0000000000003497
8. Patel NA. Pediatric COVID-19: Systematic review of the literature. *Am J Otolaryngol* 2020;41:102573. doi: 10.1016/j.amjoto.2020.102573.
9. Agencja Oceny Technologii Medycznych i Tarifikacji. Diagnostyka COVID-19. Aktualizacja Zaleceń. Wersja 2.1.2021
10. Postępowanie z dzieckiem z wieloukładowym zespołem zapalnym powiązany z COVID-19. Wytuczne grupy eksperckiej przy Polskim Towarzystwie Pediatrycznym. Aktualizacja – luty 2021. *Przegląd Pediatryczny* 2021;50(2):1-11
11. Higgins V, Fabros A, Kulasingam V. Quantitative Measurement of Anti-SARS-CoV-2 Antibodies: Analytical and Clinical Evaluation. *J Clin Microbiol* 2021;59:e03149-20. doi: 10.1128/JCM.03149-20
12. Infectious Diseases Society of America. IDSA guidelines on the diagnosis of COVID-19: serologic testing. 18 August 2020. [Internet] Available from: [www.idsociety.org/practice-guideline/covid-19-guideline-serology](http://www.idsociety.org/practice-guideline/covid-19-guideline-serology)
13. Szczepienia dzieci w wieku 5-11 lat. [Internet] Available from: <https://www.gov.pl/web/szczepimysie/dzieci-5-11>
14. Ulotka producenta testu VIDAS® SARS-COV-2 IgG II. Nr. referencyjny 424114. 058519-01-2021-03
15. She J, Liu L, Liu W. COVID-19 epidemic. Disease characteristics in children. *J Med Virol* 2020;92:747-754. doi: 10.1002/jmv.25807.
16. MorandA, Fabre A, Minodier P, et al. COVID-19 virus and children: What do we know? *ArchPediatr*2020;27:117-118. doi: 10.1016/j.arcped.
17. Kuchar E, Załęski A, Wronowski M, et al. Children were less frequently infected with SARS-CoV-2 than adults during 2020 COVID-19 pandemic in Warsaw, Poland. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2021;40:541-547. doi:1007/s10096-020-04038-9
18. Gujski M, Jankowski M, Pinkas J, et al. Prevalence of Current and Past SARS-CoV-2 Infections among Police Employees in Poland, June-July 2020. *J Clin Med* 2020;9:3245. doi: 10.3390/jcm9103245.
19. Zejda JE, Brożek GM, Kowalska M, et al. Seroprevalence of Anti-SARS-CoV-2 Antibodies in a Random Sample of Inhabitants of the Katowice Region, Poland. *Int J Environ Res Public Health* 2021;18:3188. doi: 10.3390/ijerph18063188.
20. Budziar W, Gembara K, Harhala M, et al. Hidden fraction of Polish population immune to SARS-CoV-2 in May 2021. *PLoS One* 2022;17: e0253638. doi: 10.1371/journal.pone.0253638
21. Franczak J, Moppert J, Sobolewska-Pilarczyk M, et al. The seroprevalence of SARS-CoV-2 IgG antibodies in children hospitalized for reasons other than COVID-19. *J Clin Med* 2022;11:3819. doi: 10.3390/jcm11133819.
22. Lenicek Krleza J, Zrinski Topic R, Stevanovic V, et al. Seroprevalence of SARS-CoV-2 infection among children in Children's Hospital Zagreb during the initial and second wave of COVID-19 pandemic in Croatia. *Biochem Med (Zagreb)*2021;15:020706. doi: 10.11613/BM.2021.020706.
23. Wachter F, Regensburger AP, Peter AS, et al. Continuous monitoring of SARS-CoV-2 seroprevalence in children using residual blood samples from routine clinical chemistry. *Clin Chem Lab Med* 2022;60:941-951. doi: 10.1515/cclm-2022-0037.
24. Rostami A, Sepidarkish M, Fazlzadeh A, et al. Update on SARS-CoV-2 seroprevalence: regional and worldwide. *Clin Microbiol Infect* 2021;27:1762-1771. doi: 10.1016/j.cmi.2021.09.019.

**Received:** 03.02.2023

**Accepted to publication:** 22.06.2023

Otrzymano: 03.02.2023 r.

Zaakceptowano do publikacji: 22.06.2023 r.

**Address for correspondence:**

Adres do korespondencji:

Beata Żelazowska-Rutkowska

Zakład Laboratoryjnej Diagnostyki Pediatrycznej

Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Waszyngtona 17, 15-279 Białystok

e-mail:beata.zelazowska@umb.edu.pl