



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Susceptibilidad a la infección por SARS-CoV-2 en la población pediátrica y su contribución en la transmisión dentro de los núcleos familiares

Maria Melé Casas

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) i a través del Dipòsit Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX ni al Dipòsit Digital de la UB. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX o al Dipòsit Digital de la UB (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) y a través del Repositorio Digital de la UB (diposit.ub.edu) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR o al Repositorio Digital de la UB. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR o al Repositorio Digital de la UB (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service and by the UB Digital Repository (diposit.ub.edu) has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized nor its spreading and availability from a site foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service or to the UB Digital Repository is not authorized (framing). Those rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.



UNIVERSITAT DE
BARCELONA



**Susceptibilidad a la infección por
SARS-CoV-2 en la población pediátrica
y su contribución en la transmisión dentro
de los núcleos familiares**

Maria Melé Casas

Susceptibilidad a la infección por SARS-CoV-2 en la población pediátrica y su contribución en la transmisión dentro de los núcleos familiares

Memoria de tesis doctoral presentada por

Maria Melé Casas

para optar al grado de doctora por la Universidad de Barcelona

Dirigida por el **Dr. Cristian Launes Montaña** y la

Dra. Mariona Fernández de Sevilla Estrach del Servicio de Pediatría del
Hospital Sant Joan de Déu (Universidad de Barcelona)

Tutorizada por el **Dr. Cristian Launes Montaña** del Servicio de Pediatría
del Hospital Sant Joan de Déu (Universidad de Barcelona)

Programa de Doctorado de Medicina e Investigación Translacional
Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud. Universidad de Barcelona.

Febrero, 2024

ÍNDICE

1. Introducción	15
1.1. Generalidades	16
1.2. Coronavirus	17
1.3. Historia y características del SARS-CoV-2	20
1.4. Epidemiología del SARS-CoV-2	23
1.5. Espectro clínico de la infección por SARS-CoV-2	27
1.6. Susceptibilidad a la infección por SARS-CoV-2	33
1.7. Transmisibilidad del SARS-CoV-2	40
1.7.1. Fisiopatología de la transmisión	40
1.7.2. Riesgo de transmisión del SARS-CoV-2	42
1.7.3. Diferencias entre grupos de edad	44
2. Justificación e Hipótesis	47
3. Objetivos	49
4. Metodología y resultados	51
4.1. Primer artículo	53
4.1.1. Resumen del primer artículo	53
4.1.2. Documento del primer artículo	56
4.2. Segundo artículo	65
4.2.1. Resumen del segundo artículo	65
4.2.2. Documento del segundo artículo	68
4.3. Tercer artículo	83
4.3.1. Resumen del tercer artículo	83
4.3.2. Documento del tercer artículo	86
5. Discusión	91
6. Conclusiones	115
7. Bibliografía	117

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Página 21:

- Morfología ultraestructural de los *Coronavirus*.
- Fuente: Ilustración creada en los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) y disponible en la Biblioteca de imágenes de salud pública (PHIL).

Figura 2. Página 22:

- Entrada y replicación de SARS-CoV-2 en la célula huésped.
- Fuente: COVID-19 outbreak: history, mechanism, transmission, structural studies and therapeutics. *Infection*, 2021 (7).

Figura 3. Página 24:

- Casos y muertes por SARS-CoV-2 a nivel mundial.
- Fuente: WHO COVID-19 Dashboard (13). Geneva: World Health Organization, 2020. Available online: <https://covid19.who.int/>

Figura 4. Página 25:

- Número de casos en las diferentes olas pandémicas y el número correspondiente de fallecimientos en España.
- Fuente: WHO COVID-19 Explorer (13). Available online: <https://worldhealthorg.shinyapps.io/covid>

Figura 5. Página 26:

- Pirámide de edad y sexo: casos y muertes por COVID-19 reportados por edad y sexo.
- Fuente: Age and sex pyramid: COVID-19 cases and deaths with age and sex reported. WHO Detailed Surveillance Data Dashboard (13).

ENUMERACIÓN DE LOS ARTÍCULOS DE LA TESIS

Tesis en formato de compendio de publicaciones.

La tesis consta de siete objetivos y tres artículos.

Los artículos que conforman la tesis se enumeran a continuación:

1. Primer artículo

- Autores: Brotons P, Launes C, Buetas E, Fumado V, Henares D, Fernandez de Sevilla M, Redin A, Fuente-Soro L, Cuadras D, **Mele M**, Jou C, Millat P, Jordan I, Garcia-Garcia JJ, Bassat Q, Muñoz-Almagro C; on behalf of Kids Corona Study Group
- Título: Susceptibility to Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection Among Children and Adults: A Seroprevalence Study of Family Households in the Barcelona Metropolitan Region, Spain
- Revista: Clinical Infectious Diseases. 2021. Volumen 72. Páginas: e970–e977.
- Journal Citation Reports (JCR) 2021: Q1 Infectious Diseases
- Factor de impacto 2021: 20.999

2. Segundo artículo

- Autores: **Mele-Casas M**, Launes C, de Sevilla MF, Hernandez-Garcia M, Pons-Tomas G, Bassat Q, Fumado V, Fortuny C, Garcia-Miquel A, Bonet-Carne E, Prats C, Ajanovic S, Cubells M, Claverol J, Penela-Sanchez D, Jou C, Arias S, Balanza N, Baro B, Millat-Martinez P, Alonso S, Alvarez-Lacalle E, Catala M, Cuadras D, Muñoz-Almagro C, Gratacos E, Jordan I, Garcia-Garcia JJ
- Título: Low transmission of SARS-CoV-2 derived from children in family clusters: An observational study of family households in the Barcelona Metropolitan Area, Spain
- Revista: PLOS ONE. 2022. eCollection 2022.
- JCR 2022: Q1 Multidisciplinary Sciences
- Factor de impacto 2022: 3.752

3. Tercer artículo

- Autores: **Melé M**, Henares D, Pino R, Asenjo S, Matamoros R, Fumadó V, Fortuny C, García-García JJ, Jordan I, Brotons P, Muñoz-Almagro C, F-de-Sevilla M, Launes C; on behalf of Kids-Corona Paediatric Hospitalist group
- Título: Low impact of SARS-CoV-2 infection among paediatric acute respiratory disease hospitalizations
- Revista: Journal of Infection. 2021. Volumen 82. Páginas: 431-434.
- JCR 2021: Q1 Infectious Diseases
- Factor de impacto 2021: 38.637

1. INTRODUCCIÓN

1.1 GENERALIDADES

La presente Tesis Doctoral se realiza en el marco de la plataforma de investigación sobre COVID-19 “Kids Corona”.

“Kids Corona” surge al inicio de la pandemia por SARS-CoV-2 (marzo 2020), impulsada por un grupo de investigadores del Institut de Recerca del Hospital Sant Joan de Déu, con el objetivo de dar respuesta a las cuestiones surgidas entorno a los niños y el COVID-19.

Al inicio de la pandemia, los niños fueron uno de los principales grupos afectados por el confinamiento, con un cierre temprano de las escuelas. Pese a ser considerados un grupo de riesgo para infecciones respiratorias, se observó inicialmente que el número de niños afectados parecía ser muy inferior al de adultos, y cuando se infectaban solían padecer una forma más leve de enfermedad. Por ello, se plantearon diversos proyectos de investigación para dar respuesta a las principales preguntas clave, tales como ¿los niños y niñas se infectan menos que los adultos?, ¿los niños se infectan igual pero no transmiten tanto la enfermedad? o ¿los niños se infectan igual pero no desarrollan la enfermedad de la misma manera?

Entender la susceptibilidad de los niños a la infección por SARS-CoV-2 y la capacidad de transmisión de los niños a otros menores o adultos, se consideraron cuestiones de gran importancia para la salud pública, con importantes implicaciones educativas y sociales para la población pediátrica. El objetivo de la presente Tesis Doctoral, es precisamente dar respuesta a estas cuestiones.

1.2 CORONAVIRUS

La enfermedad infecciosa por Coronavirus 2019 (COVID-19) fue reportada por primera vez en Wuhan (China) a finales de 2019, tras declararse un brote de casos de neumonía viral grave debido a un agente microbiológico no identificado.

El virus causante de los primeros casos de neumonía descritos fue aislado y secuenciado. Tras la secuenciación del genoma y el análisis filogenético, se identificó un nuevo *Coronavirus* como el patógeno causante, denominado SARS-CoV-2.

Los *Coronavirus* (CoV) son estructuralmente virus esféricos de 100-160nm de diámetro, con una envoltura lipoproteica y contienen ARN monocatenario (ssRNA) de polaridad positiva de entre 26 y 32 kilobases de longitud. Reciben su nombre por sus proyecciones de superficie en forma de corona observadas en microscopía electrónica. Se encuentran en especies de aves y mamíferos. Los *Coronavirus* son específicos del huésped y pueden infectar a los humanos, así como a una variedad de animales diferentes, causando diversos síndromes clínicos. Se pueden dividir en cuatro géneros: alfa, beta, delta y gamma, de los cuales se conoce que los CoV alfa y beta infectan a los humanos (1).

Hasta la aparición del SARS-CoV-2, se habían descrito seis coronavirus en humanos. Cuatro de ellos (HCoV-NL63, HCoV-229E, HCoV-OC43 y HKU1), son endémicos a nivel mundial. Presentan una estacionalidad típicamente invernal (de noviembre a marzo). Se manifiestan principalmente como infecciones del tracto respiratorio superior caracterizadas por rinorrea, congestión nasal, odinofagia, estornudos y tos que pueden estar asociados a febrícula o fiebre. Los síntomas son autolimitados y normalmente alcanzan su punto máximo en el día 3 o 4 de la enfermedad. Estas infecciones por HCoV

también pueden estar asociadas con otitis media aguda o exacerbaciones asmáticas. Se asocian, con menor frecuencia, con infecciones de las vías respiratorias bajas, como bronquiolitis, croup y neumonía, principalmente en lactantes, niños y adultos inmunocomprometidos (2).

Son una de las principales causas de infecciones leves del tracto respiratorio superior, lo que representa aproximadamente el 10-30% de los resfriados comunes, aunque pueden producir enfermedad grave en ancianos, niños y huéspedes inmunocomprometidos. Los datos de seroprevalencia para estos HCoV sugieren que la exposición es común en la primera infancia, siendo aproximadamente el 90% de los adultos seropositivos para HCoV 229E, OC43 y NL63 y el 60% para HCoV HKU1 (2).

Son excepción, el SARS-CoV (Coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo) y el MERS-CoV (Coronavirus del síndrome respiratorio de Oriente Medio), ambos patógenos emergentes a partir de un reservorio animal, que han sido responsables de infecciones respiratorias graves de corte epidémico con gran repercusión internacional debido a su morbilidad y mortalidad.

Una epidemia de SARS-CoV en 2002-2003 afectó a más de 8.000 personas de 26 países diferentes con 774 muertes (3). No se ha reportado ningún caso a nivel mundial desde principios de 2004. Se asoció con síntomas más graves respecto a los coronavirus estacionales, aunque el espectro clínico también incluía infecciones asintomáticas o con síntomas leves. Afectó más frecuentemente a adultos, requiriendo en un 20% intubación y ventilación mecánica por distrés respiratorio, con una mortalidad global de casi el 10%. Las infecciones por SARS-CoV en niños fueron menos graves que en adultos;

sin documentarse ningún fallecimiento en lactantes o niños. Los lactantes y niños menores de 12 años que desarrollaron SARS presentaban fiebre, tos y rinorrea. La linfopenia asociada fue menos severa y los cambios radiográficos más leves, junto con una resolución clínica más rápida que en adolescentes y adultos. En cambio, los adolescentes que desarrollaron SARS presentaron cursos clínicos más parecidos a los de los adultos, presentando fiebre, mialgias y cefalea. Los adolescentes también presentaron con mayor frecuencia disnea, hipoxemia, hallazgos radiológicos más severos y alteraciones analíticas comparables a las de la enfermedad del adulto (2).

El MERS-CoV se notificó por primera vez en 2012 y ahora es endémico en la región del Golfo Pérsico, principalmente con brotes nosocomiales y con una transmisión comunitaria limitada (4). El MERS-CoV causa una enfermedad respiratoria grave similar a la del SARS-CoV, aunque el espectro clínico también incluye infecciones asintomáticas o con síntomas leves. La mayoría de los casos se han identificado en adultos varones con comorbilidades previas. Los niños infectados suelen presentar síntomas más leves. Los pacientes presentan inicialmente fiebre y mialgias, seguidos de tos no productiva y disnea los días posteriores, pudiendo evolucionar con un rápido deterioro de la oxigenación con infiltrados progresivos unilaterales o bilaterales en la radiografía de tórax, lo que requiere ventilación mecánica y, a menudo, se asocia con insuficiencia renal aguda. La tasa de mortalidad es alta, estimada entorno al 35%, aunque puede estar parcialmente sesgada por vigilancia de enfermedades graves (2).

Por último, el reciente coronavirus SARS-CoV-2 supone el séptimo coronavirus aislado y caracterizado capaz de provocar infecciones en humanos.

1.3 HISTORIA Y CARACTERÍSTICAS DEL SARS-CoV-2

Tras la secuenciación del genoma y el análisis filogenético del SARS-CoV-2, se observó una alta homología con virus del género *Betacoronavirus*, concretamente un 88% de identidad con dos coronavirus aislados de murciélagos en 2018. Estas secuencias mostraron, sin embargo, una homología de secuencia menor con el virus del SARS (79%) y el virus del MERS (50%). Esta diferencia con el SARS-CoV se consideró suficiente como para clasificar a este patógeno como un nuevo miembro del género *Betacoronavirus* (5). Se denominó SARS-CoV-2 a este nuevo virus de la familia *Coronavirus*, teniendo en cuenta los brotes anteriores de síndrome respiratorio agudo severo (SARS; 2002-2003) y el síndrome respiratorio del Medio Oriente (MERS; 2012-en curso) (6).

Los datos sugieren que el SARS-CoV evolucionó a partir de un reservorio natural de virus similares al SARS-CoV en murciélagos a través de gatos de civeta u otros huéspedes animales intermedios en los mercados húmedos de China, y que el MERS-CoV probablemente evolucionó a partir de murciélagos, con camellos dromedarios actuando como huéspedes intermedios (2). El SARS-CoV-2 se ha considerado un virus de rápida propagación que inicialmente se transmitió de animales a humanos y posteriormente se confirmó también transmisión de persona a persona. El reservorio natural animal del SARS-CoV-2 podrían ser los murciélagos y los huéspedes intermediarios los gatos, pangolines y perros (7).

Dada la alta prevalencia y amplia distribución de los *Coronavirus*, la gran diversidad genética, la recombinación frecuente de sus genomas, y el aumento de las actividades

humano-animal, es probable que surjan periódicamente nuevos *Coronavirus* en los seres humanos debido a las frecuentes infecciones cruzadas entre especies (8,9). En consecuencia, el intercambio de material genético y los cambios de virulencia podrían potenciar pandemias graves. Estos virus también tienen la capacidad de adaptarse a un nuevo entorno a través de mutaciones y están programados para modificar el tropismo del huésped; por lo tanto, las amenazas son constantes y a largo plazo.

El genoma del virus SARS-CoV-2 codifica 4 proteínas estructurales (*Figura 1*): la proteína S (spike protein), la proteína E (envelope), la proteína M (membrane) y la proteína N (nucleocapsid) (5). Los viriones tienen la apariencia de una corona solar.

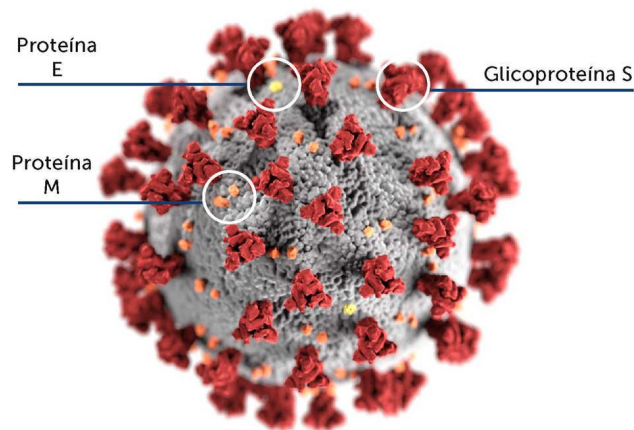


Figura 1: Morfología ultraestructural de los Coronavirus. Fuente: Ilustración creada en los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) y disponible en la Biblioteca de imágenes de salud pública (PHIL).

De sus proteínas de superficie, la glicoproteína Spike o “S” es la que se une a la célula del huésped a través de los receptores para el enzima convertidor de angiotensina II (ACE-2) (*Figura 2*). El SARS-CoV-2 penetra en la célula empleando como receptor a ACE-2 y utilizando la proteasa celular TMPRSS2. La glicoproteína S es determinante para el tropismo del virus, facilita la fusión de la membrana del virus con la de la célula huésped

permitiendo la liberación del genoma viral al interior de la célula infectada. La entrada en la célula tiene lugar por un mecanismo de endocitosis y el virus se replica intracelularmente. Este mecanismo activa la inmunidad innata o celular como primera respuesta inmunitaria y activa la producción de citoquinas, causando daño celular.

Al unirse a las células epiteliales del tracto respiratorio, el SARS-CoV-2 comienza a replicarse y migrar por las vías respiratorias y entra en las células epiteliales alveolares a nivel pulmonar. La rápida replicación del SARS-CoV-2 en los pulmones puede desencadenar una fuerte respuesta inmunitaria. La gran liberación de citoquinas provoca el síndrome de dificultad respiratoria aguda, que se considera la principal causa de muerte en pacientes con COVID-19 (10,11).

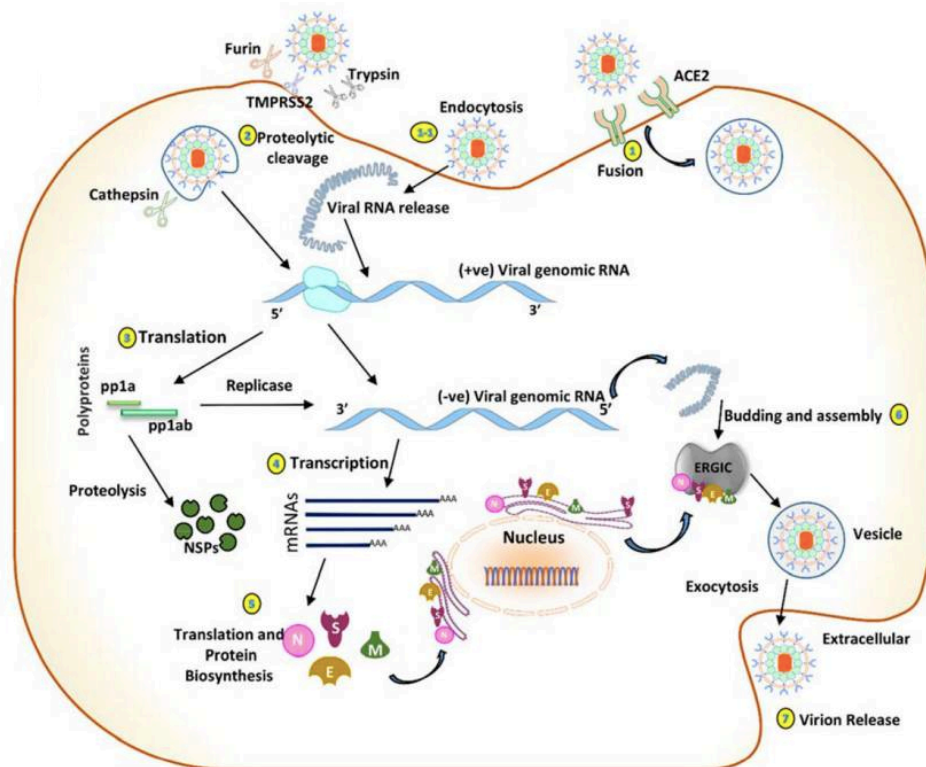


Figura 2: Entrada y replicación de SARS-CoV-2 en la célula huésped. Fuente: COVID-19 outbreak: history, mechanism, transmission, structural studies and therapeutics. Infection, 2021 (7).

1.4 EPIDEMIOLOGIA DEL SARS-CoV-2

El SARS-CoV-2 se ha convertido desde que surgió en Wuhan (China) en diciembre de 2019 en un problema de salud pública. El brote de COVID-19 se propagó desde China y se extendió por todo el mundo a un ritmo alarmante, lo que resultó en un aumento exponencial de la tasa de infección y de mortalidad.

El 30 de enero de 2020, la Organización Mundial de la Salud (OMS) reconoció la epidemia de SARS-CoV-2 como una emergencia de salud pública de importancia internacional, y finalmente fue reconocida como una pandemia por la OMS en marzo de 2020 al tener una propagación mundial.

Rápidamente superó al SARS y al MERS tanto en términos de número de personas infectadas como de mayor distribución espacial de áreas epidémicas. Aun y así, pese a su alta transmisibilidad, el SARS-CoV-2 presenta una tasa de mortalidad menor (2,3%) en comparación con el SARS-CoV (9,5%) y el MERS (34,4%) (12).

El SARS-CoV-2 ha demostrado tratarse de un virus altamente contagioso y patogénico, que obligó adoptar medidas extremas para el control de la transmisión comunitaria, con políticas estrictas de control llevadas a cabo por los gobiernos de los diferentes países afectados.

A nivel epidemiológico, según la OMS (13), hasta el momento (enero de 2024), se han infectado por SARS-CoV-2 más de 770 millones de personas ocasionando más de 6,9 millones de fallecimientos en todo el mundo. Tal y como se ilustra en el mapamundi (Figura 3), Asia, Europa y América son los continentes más afectados.

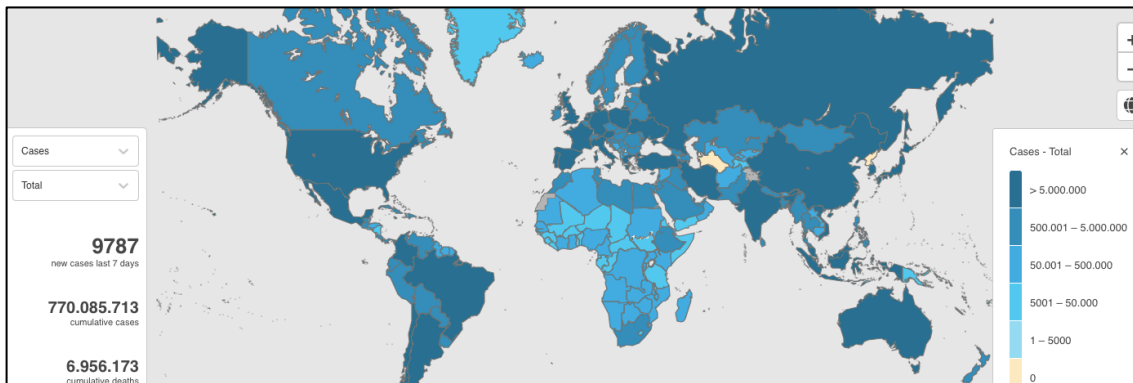


Figura 3: Casos y muertes por SARS-CoV-2 a nivel mundial. Fuente: WHO COVID-19 Dashboard (13). Geneva: World Health Organization, 2020. Available online: <https://covid19.who.int/>

En España, el SARS-CoV-2 ha tenido un notable impacto con más de 13 millones de infectados y más de 120.000 muertes hasta el momento. En la siguiente gráfica (Figura 4) puede observarse el número de casos en las diferentes olas pandémicas y el número correspondiente de fallecimientos. Se pone de manifiesto un elevado número de fallecimientos sobretudo en la primera ola pandémica iniciada en marzo de 2020, que además supuso un colapso del sistema sanitario. También destaca el marcado número de casos con pico máximo en enero de 2022, en contexto de la variante Ómicron del SARS-CoV-2.

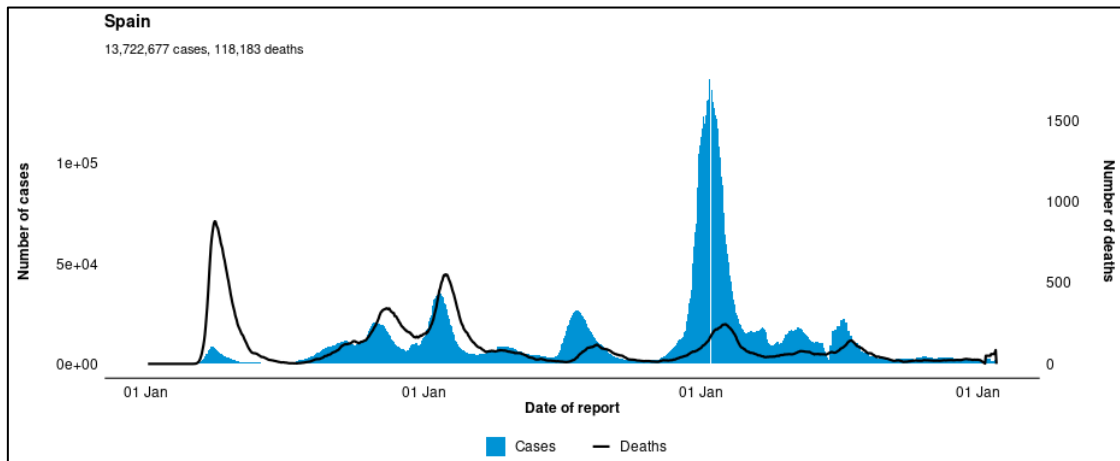


Figura 4: Número de casos en las diferentes olas pandémicas y el número correspondiente de fallecimientos en España. Fuente: WHO COVID-19 Explorer (13). Available online: <https://worldhealthorg.shinyapps.io/covid>

España fue uno de los países más afectados desde el inicio de la pandemia por COVID-19. El gobierno nacional declaró el estado de emergencia el 14 de marzo de 2020, imponiendo un estricto confinamiento para la población y el cierre de los centros educativos, culturales y de ocio en todo el país. Este confinamiento afectó a niños y adultos. Se empezaron a permitir paseos al aire libre para menores de 14 años (cada día y durante no más de una hora) a partir del 26 de abril, y posteriormente se iniciaron las diferentes fases de desescalada hasta el final del confinamiento y del estado de alarma que concluyeron el 21 de junio. Tras expirar el estado de alarma, España entró en la llamada «nueva normalidad», que incluía la reapertura de las escuelas en setiembre de 2020. A lo largo del verano, sin embargo, se multiplicaron los rebrotes en distintos puntos del país, y el 25 de octubre el Gobierno decretó de nuevo el estado de alarma para hacer frente a la segunda ola de contagios. Se estableció el toque de queda nocturno, se dejó en manos de los gobiernos autonómicos las medidas de contención, y se prorrogó el estado de alarma hasta mayo de 2021.

Además del gran impacto epidemiológico a nivel mundial, destaca en el registro de casos reportados por la OMS (*Figura 5*), un menor número de infecciones registradas en la población pediátrica respecto a la población adulta, como se observa en la pirámide de la izquierda. Además se presenta a la derecha, una pirámide invertida en cuanto a la mortalidad, siendo ésta predominante en personas mayores de 80 años.

En cuanto a la diferencia entre sexos, se observa un ligero predominio del sexo femenino respecto el sexo masculino tanto en el número de casos como de fallecimientos.

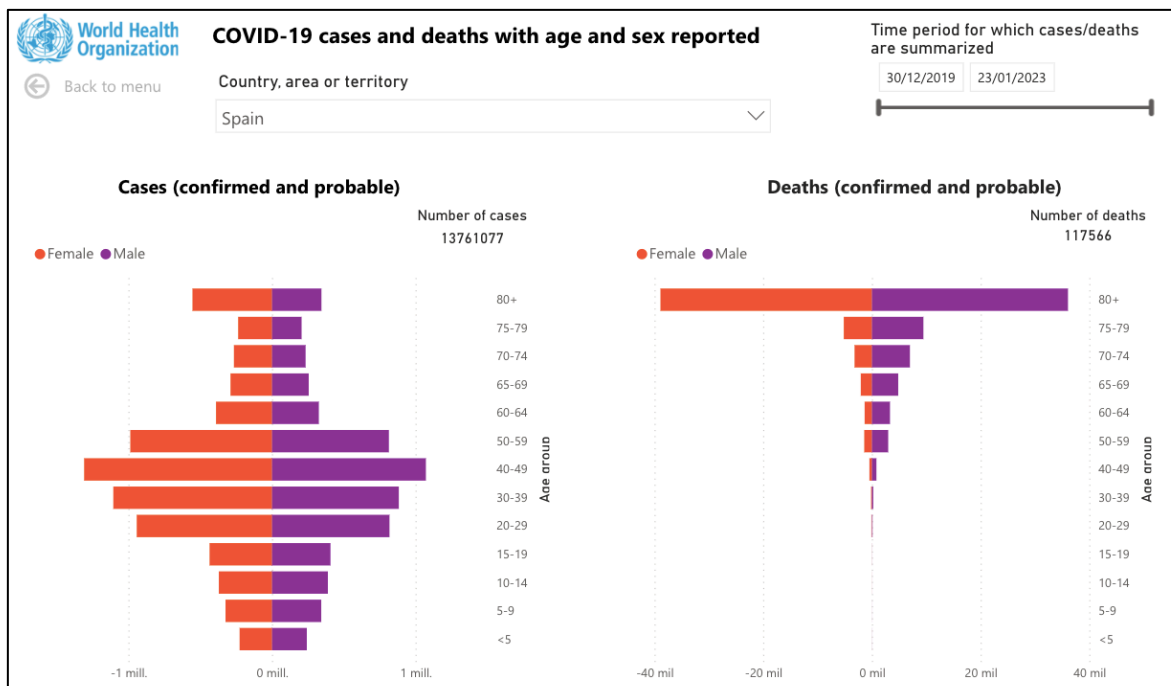


Figura 5: Pirámide de edad y sexo: casos y muertes por COVID-19 reportados por edad y sexo.

Fuente: Age and sex pyramid: COVID-19 cases and deaths with age and sex reported. WHO Detailed Surveillance Data Dashboard (13).

1.5 ESPECTRO CLÍNICO DE LA INFECCIÓN POR SARS-CoV-2

Las manifestaciones clínicas y el espectro de la enfermedad por SARS-CoV-2 conocida como COVID-19 abarcan desde casos asintomáticos a presentaciones leves y graves (tales como el síndrome de distrés respiratorio agudo grave -SDRA-).

Los síntomas y signos más frecuentes descritos inicialmente por la OMS en China fueron: fiebre (87,9%), tos seca (67,7%), astenia (38,1%), expectoración (33,4%), disnea (18,6%), odinofagia (13,9%), cefalea (13,6%), mialgias o artralgias (14,8%), escalofríos (11,4%), náuseas o vómitos (5%), congestión nasal (4,8%), diarrea (3,7%), hemoptisis (0,9%) y congestión conjuntival (0,8%)(14).

Tras múltiples estudios, los síntomas más frecuentes descritos al inicio de la clínica son fiebre, tos, fatiga y mialgias. Los síntomas gastrointestinales, incluyendo anorexia, náuseas, vómitos y diarrea también son comunes, presentes en casi el 40% de los pacientes en algunas cohortes (15).

Uno de los datos más relevantes, es la notificación de un mayor porcentaje de casos asintomáticos, que en algunos estudios superan a los que presentan clínica, sobretodo en población pediátrica (16).

El período de incubación medio estimado es entre 3 y 6 días, aunque puede modificarse según la variante del virus. La duración descrita desde el inicio de los síntomas y el inicio de la disnea es de 5 a 6 días, siendo el intervalo desde el inicio de los síntomas hasta el desarrollo del SDRA aproximadamente de 8 a 12 días.

La gravedad de la enfermedad y el desarrollo de SDRA están asociados con mayor edad y comorbilidades subyacentes, tales como hipertensión, diabetes y enfermedades cardiovasculares.

En comparación, el período de incubación parece ser más largo en niños. En un estudio multicéntrico realizado en China, el período medio de incubación en la población menor de 14 años, fue de 9,1 días con un rango de 4 a 21 días (17).

Además, la mayoría de los niños parecen tener una enfermedad leve. Se ha observado que los niños con infección por SARS-CoV-2 son menos sintomáticos que los niños con infección por SARS-CoV (18). La mayoría de los casos pediátricos de COVID-19 se caracterizan por infecciones asintomáticas o con síntomas leves, con buen pronóstico (19–22).

Una de las excepciones a la benignidad de la infección por SARS-CoV-2 en la edad pediátrica es el síndrome inflamatorio multisistémico asociado temporalmente a SARS-CoV-2 (MIS-C). Se trata de un síndrome inflamatorio multisistémico en niños, que comparte características clínicas y analíticas con la enfermedad de Kawasaki, aunque cursa en general con mayor componente de sintomatología digestiva y de hipotensión o shock, y los pacientes presentan un mayor rango de edad (23). La literatura reporta que el MIS-C generalmente se manifiesta de 3 a 4 semanas después de la infección por SARS-CoV-2, lo que explicaría que en el momento del diagnóstico la mayoría de pacientes tengan anticuerpos positivos contra el SARS-CoV-2, pero una RT-PCR negativa (24). Los síntomas más frecuentes del MIS-C son la fiebre ($\geq 38^{\circ}\text{C}$), que es criterio diagnóstico, y los síntomas gastrointestinales, que aparecen en el 84% de los pacientes

(dolor abdominal, vómitos o diarrea). Los síntomas respiratorios son menos frecuentes. La afectación cardíaca, principalmente en forma de disfunción ventricular izquierda y alteraciones coronarias, es la complicación más grave. En una revisión sistemática, resumieron la presentación clínica de 662 niños diagnosticados con MIS-C y encontraron que muchos progresaban rápidamente a shock (n= 398, 60,1%) e insuficiencia cardiorrespiratoria (n= 314 de 581, 54,0%), y lo que es más destacable, con una tasa de mortalidad del 1,7% (11 de 662), que es mucho más elevada que el 0,09% observado en los niños con COVID-19 en general (25).

En niños, es poco frecuente que el COVID-19 requiera hospitalización y en este caso se presenta como cinco fenotipos clínicos principales de gravedad decreciente: MIS-C, enfermedad broncopulmonar, enfermedad gastrointestinal, enfermedad leve y fiebre sin foco. Menos del 1% de los niños y adolescentes con COVID-19 precisa ingreso; y de ellos cerca de un 15-20% precisa cuidados intensivos. Los factores de riesgo para requerir ingreso en una unidad de cuidados intensivos pediátricos (UCIP) incluyen MIS-C, biomarcadores de inflamación y comorbilidades específicas como asma, enfermedad hepática moderada o grave y enfermedad cardíaca (26). Otros estudios también han asociado la edad (menores de 1 mes y entre 10-14 años) (27,28) y la etnia (raza negra) a un mayor riesgo de ingreso en UCIP (28). En un estudio multicéntrico nacional (29), la necesidad de ventilación mecánica (VM) fue mayor en pacientes de menor edad, en pacientes con mayor puntuación en scores de fallo multiorgánico, en pacientes con condiciones médicas preexistentes y en pacientes que presentan dificultad respiratoria y SDRA, como se describe en pacientes adultos.

Es importante tener en cuenta que, en muchas ocasiones, es difícil precisar si estos niños requirieron atención de alto nivel debido al COVID-19, o simplemente dieron positivo por RT-PCR SARS-CoV-2 e ingresaron debido a un diagnóstico alternativo o comorbilidad activa en un momento en que la transmisión comunitaria del virus en sus entornos geográficos era alta (30).

En cuanto al pronóstico de la infección por SARS-CoV-2 en la población pediátrica, la presencia de comorbilidades (tales como obesidad, enfermedad pulmonar crónica, cardiopatía congénita y enfermedades neurológicas) (31) y la alteración de los biomarcadores (PCR y nivel de dímero D al ingreso) (32) se han asociado con un mal pronóstico en niños y adolescentes con COVID-19. La presencia de síntomas clínicos y las complicaciones (SDRA, insuficiencia renal aguda, MIS-C, dificultad respiratoria, síntomas gastrointestinales y la necesidad de cuidados intensivos) también suponen un riesgo aumentado, según un metaanálisis que incluye 56 estudios publicado en *The Lancet* (33).

Por lo tanto, a pesar de que los niños, en general, parece que se ven afectados por COVID-19 con menor gravedad que los adultos, identificar los factores de riesgo de mal pronóstico es muy importante.

En cuanto a la edad, aún no se han determinado las causas de las diferencias observadas en la gravedad de la enfermedad entre los distintos grupos de edad infantil. En el mencionado metaanálisis (33), en la mayoría de los estudios encontraron que los niños más pequeños tenían un peor curso clínico. Sin embargo, no se pudo cuantificar una relación entre la edad y el pronóstico en los niños, a pesar de encontrar alguna

evidencia. Por ejemplo, los niños menores de un mes tenían mayor riesgo de ingreso en la unidad de cuidados intensivos, pero los niños ingresados en la UCIP tendían a ser mayores respecto a los que no lo estaban.

Desde el inicio de la pandemia, se han postulado varias hipótesis sobre por qué los niños parecen desarrollar COVID-19 menos grave respecto a los adultos.

En primer lugar, en los niños, la respuesta inmune innata inducida en las infecciones virales conduce a la secreción de interferones tipo I (IFN- α/β), que tienen una actividad antiviral. Por el contrario, el envejecimiento conduce al aumento de citoquinas proinflamatorias circulantes (interleucina (IL) 1b, IL-6, IL-18 y factor de necrosis tumoral α), que comprometen la función celular apoptótica y disminuyen los fagocitos a nivel pulmonar (34).

Por otra parte, dado que los cuatro coronavirus humanos (HCoV) (OC43, NL63, HKU1 y 229E) circulan continuamente en niños pequeños (los HCoV se encuentran como coinfecciones con otros virus respiratorios en casi la mitad de las infecciones pediátricas agudas del tracto respiratorio), la inmunidad a un HCoV puede proteger contra la infección por otro HCoV, debido a la inmunidad humoral de reacción cruzada y la inmunidad de células T entre los coronavirus comunes y el SARS-CoV-2 (35). Por ello, se especula que la inmunidad inducida por estos cuatro virus comunes podría conferir una protección parcial contra la infección por SARS-CoV-2 en niños (34). Esta inmunidad disminuye en 1 o 2 años y no está presente en personas adultas. Sin embargo, no se ha estudiado ni confirmado con estudios de neutralización in vitro.

Otra contribución tampoco despreciable a las posibles causas de menor gravedad de SARS-CoV-2 en niños, podría ser la presencia de menos comorbilidades en la población pediátrica en comparación con la población adulta. Tener comorbilidades previas puede predisponer a una mayor gravedad dado un estado proinflamatorio preexistente (30).

Por último, también se postula la hipótesis de que los niños presenten cargas virales relativamente más bajas respecto a los adultos, por lo que podrían no desencadenar una respuesta inflamatoria tan intensa, con la consecuente menor gravedad de la infección (30).

1.6 SUSCEPTIBILIDAD A LA INFECCIÓN POR SARS-CoV-2

Desde el inicio de la pandemia, se observó una diferente susceptibilidad a la infección por SARS-CoV-2 en la población. Se evaluaron diferentes factores de riesgo para infectarse de SARS-CoV-2. En un estudio realizado en Reino Unido, se identificaron una mayor edad, el sexo masculino, la densidad de población, vivir en zonas más desfavorecidas y la etnia negra como factores de riesgo, así como la enfermedad renal crónica y la obesidad (36).

Sin embargo, desde el inicio de la pandemia, se prestó poca atención a la susceptibilidad de los niños, aunque parecían tener un menor riesgo de infección por SARS-CoV-2, así como de síndrome respiratorio agudo severo y mortalidad (37).

Al inicio de este proyecto de investigación, la susceptibilidad de los niños a la infección causada por SARS-CoV-2, el agente etiológico de COVID-19, y la persistencia de la respuesta inmunológica al virus después de la resolución de la infección eran poco conocidas, a pesar de sus importantes implicaciones para la salud pública.

Aún no estaba claro hasta qué punto los niños podían ser menos susceptibles que los adultos a la infección por SARS-CoV-2. Los datos epidemiológicos planteaban la cuestión de si los niños eran menos susceptibles a la infección, o si la incidencia de la infección en esta población se subestimaba como resultado de manifestaciones clínicas leves o incluso infecciones asintomáticas.

El SARS-CoV-2 puede identificarse mediante la detección serológica de anticuerpos en muestras de sangre o suero una vez que se ha completado la seroconversión a partir de

la primera semana desde el inicio de los síntomas o mediante la detección de ARN viral en las vías respiratorias superiores u otras muestras mediante la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa en tiempo real (RT-PCR) durante los días inmediatamente posteriores al inicio de los síntomas.

Los estudios serológicos poblacionales permiten determinar la seroprevalencia y conocer la susceptibilidad a la infección de la población. Concretamente los estudios serológicos domiciliarios son diseños adecuados para proporcionar pruebas sólidas sobre la susceptibilidad a la infección por SARS-CoV-2 y la protección inmunológica en grupos definidos, estables y fáciles de seguir de casos primarios confirmados y sus contactos cercanos (38).

Varios estudios poblacionales y series de casos clínicos sugerían que la población pediátrica tiene una probabilidad comparativamente menor de ser infectada por el virus.

Los primeros datos epidemiológicos del brote en China, mostraban que de un total de 44.672 casos confirmados, solo un 2% pertenecía a población menor de 19 años (6). Así mismo, a nivel nacional, en abril de 2020, el Ministerio de Sanidad y el Instituto de Salud Carlos III, en colaboración con los servicios sanitarios de las Comunidades Autónomas, impulsaron ENE-COVID, un estudio seroepidemiológico longitudinal de base poblacional, para cuantificar el alcance de la circulación de SARS-CoV-2. El estudio incluyó a más de 61.000 personas de domicilios seleccionados aleatoriamente, siendo diseñado para ser representativo por provincia, grupo de edad y sexo (39). La seroprevalencia fue del 1,1% en lactantes menores de 1 año, del 3,1% en niños de 5 a 9

años, aumentando con la edad hasta estabilizarse alrededor del 6% en personas mayores de 45 años. Un estudio poblacional llevado a cabo en Islandia, también destacó la menor incidencia de infección por SARS-CoV-2 en niños menores de 10 años, respecto a adolescentes y adultos (40), así como otro estudio poblacional suizo, realizado en Ginebra (denominado SEROCOVID-POP), en el que se destacó una menor susceptibilidad observada en niños entre 5 y 9 años de edad (41), y un estudio poblacional italiano, en la localidad de Vo, que también sugirió una menor susceptibilidad a la infección por SARS-CoV-2 de los niños respecto a los adultos (42).

Paralelamente a los estudios poblacionales y series de casos, los estudios de rastreo de contactos mostraban evidencias mixtas, con tasas de infección reducidas (43,44) o similares (45) en niños en comparación con adultos, por lo se requerían más estudios para confirmar estas hipótesis, motivando uno de los estudios de la presente tesis.

Desde el inicio de la pandemia, se han postulado varias hipótesis sobre la posible menor susceptibilidad de los niños a la infección por SARS-CoV-2.

Una de las hipótesis sobre la menor incidencia de la infección observada en niños, podría atribuirse a la menor expresión tisular de la proteína ACE2 (enzima convertidor de angiotensina 2) en el epitelio nasal, respecto a los adultos (37,46).

La proteína ACE2 es el receptor en el epitelio nasal que utiliza SARS-CoV-2 para la entrada al huésped. Como ya se ha comentado previamente, se ha demostrado que el ACE2 se une a la proteína S del SARS-CoV-2 y promueve la internalización del virus en las células humanas.

Se ha documentado una expresión genética de ACE2 dependiente de la edad en el epitelio nasal, con una menor expresión evidente en niños más pequeños y una expresión creciente con la edad. Dado que este es el primer punto de contacto del SARS-CoV-2 en el cuerpo humano, la expresión más baja de ACE2 en el epitelio nasal de los niños podría explicar una menor susceptibilidad a la infección en este grupo de edad (30).

Además de haberse descrito que su expresión tisular aumenta con la edad en el epitelio nasal pudiendo explicar una menor incidencia de la infección observada en niños, también se han descrito diferencias dentro de la población pediátrica, con una mayor expresión de ACE2 en niños a partir de los 10 años de edad. De entre una cohorte de 305 pacientes de 4 a 60 años, niños mayores (10-17 años; n = 185), adultos jóvenes (18-24 años; n = 46) y adultos (≥ 25 años; n = 29), todos tenían una expresión más alta de ACE2 en el epitelio nasal en comparación con los niños más pequeños (4-9 años; n = 45), y la expresión de ACE2 fue más alta con cada grupo de edad subsiguiente (37).

Por otra parte, Bunyavanich et al (46) han sugerido que la expresión de ACE2 en el epitelio nasal en su cohorte no refleja la expresión de ACE2 en el epitelio pulmonar, ya que la expresión de ACE2 en el tracto respiratorio inferior está regulada de manera diferente. En el epitelio nasal de las vías respiratorias superiores, una expresión más baja de ACE2 podría ser útil para disminuir la adquisición de la infección por SARS-CoV-2. Sin embargo, en el tracto respiratorio inferior, parece que la disminución de la expresión de ACE2 podría presagiar un mayor riesgo de desarrollar dificultad respiratoria aguda grave y lesión pulmonar.

En el tracto respiratorio inferior, donde tanto el SARS-CoV como el SARS-CoV-2 parecen tener sus efectos patogénicos más agudos, se ha identificado la expresión de ACE2 y de TMPRSS2 tanto en neumocitos tipo I como tipo II (30). Modelos animales han demostrado que el ACE2 impulsa el desarrollo pulmonar; su densidad es máxima en los primeros años de vida en el pulmón, mientras que el envejecimiento se asocia con una disminución de su expresión. Además, el ACE2 juega un papel protector en los pulmones contra el desarrollo del síndrome de dificultad respiratoria agudo. De hecho, un mayor riesgo de lesión pulmonar parece estar asociado con una expresión disminuida de ACE2 en el tracto respiratorio inferior. Suponiendo un papel similar de ACE2 y una expresión dependiente de la edad similar en células humanas que en animales, estas observaciones pueden sugerir que los niños pueden ser propensos a la infección por SARS-CoV-2 sin síntomas o con síntomas leves (34,47), y podría explicar la protección de este grupo de edad frente a las manifestaciones clínicas graves de COVID-19.

Por todo ello, la expresión diferencial de ACE2 en niños, puede atenuar la entrada viral, así como la replicación en curso y la subsiguiente inflamación, hipoxia y daño tisular (30).

Otra de las hipótesis que se postula respecto a la menor susceptibilidad a la infección de la población pediátrica en los estudios de seroprevalencia, además de la menor expresión de ACE2 en el epitelio nasal, es que dado que la infección en niños es mayoritariamente asintomática o paucisintomática, esto provoca una respuesta inmunológica menor o más transitoria, como ya se demostró en el coronavirus del síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS-CoV) (48).

Un posible factor de confusión podría estar relacionado con las medidas de distanciamiento social que tuvieron lugar durante la primera ola de la pandemia, precisamente cuando se realizaron muchos de los estudios de seroprevalencia. Concretamente el cierre precoz de las escuelas de cualquier grado estuvieron entre las primeras instituciones que cerraron, por lo que podría haber dado lugar a una menor exposición al virus en los niños de los grupos de edad preescolar y escolar (44).

Se debate también la hipótesis de que los niños parecen tener una tasa observada de casos de COVID-19 baja, pero pueden tener tasas de infección por SARS-CoV-2 similares a las de los adultos. Esta discrepancia podría deberse a que los niños, dado que son asintomáticos o tienen sintomatología leve, no consultan para evaluación médica y pueden no ser reportados en los casos observados de COVID-19 (49). Es posible que el confinamiento impuesto por algunos gobiernos, junto con el miedo creciente a acudir a los hospitales, hayan supuesto una importante reducción del número de visitas pediátricas a urgencias. Todo esto podría haber llevado a la falta de confirmación de laboratorio de la infección por SARS-CoV-2 en niños que muestran síntomas leves de COVID-19 (34).

Además, la identificación de casos de infección por SARS-CoV-2 en niños resulta un desafío. Distinguir el COVID-19 de otras enfermedades virales del tracto respiratorio puede ser complicado en los niños solo con los datos clínicos, especialmente durante la temporada epidémica, cuando los virus HCoV comunes, el virus respiratorio sincitial, el metapneumovirus humano, el parainfluenza y los virus de la gripe suelen estar en circulación. Esta complejidad en su diagnóstico se debe a la inespecificidad de los

síntomas principales (fiebre y tos no productiva). En niños muy pequeños, también hay dificultad para identificar signos de fatiga, mialgias, dolor de cabeza, anosmia y ageusia, que se presentan con frecuencia en adultos con COVID-19. Por este motivo, se puede haber infraestimado los casos de SARS-CoV-2 en la población pediátrica (34), ya que no existen características clínicas distintivas que permitan al clínico hacer el diagnóstico sin pruebas de laboratorio. A falta de signos y/o síntomas más específicos de COVID-19 pediátrico, la exposición previa a una persona infectada con SARS-CoV-2 se convirtió en un buen discriminador para el diagnóstico de la enfermedad en niños.

Al inicio de este proyecto de investigación, pese a las múltiples hipótesis expuestas, dadas las evidencias mixtas en los artículos publicados hasta aquel momento, aún no estaba claro hasta qué punto los niños podían ser menos susceptibles que los adultos a la infección por SARS-CoV-2.

1.7 TRANSMISIBILIDAD DEL SARS-CoV-2

El SARS-CoV-2 tiene una elevada tasa de transmisibilidad. Desde el origen del primer brote en Wuhan (China), se propagó a más de 100 países en los 2 meses posteriores a su identificación, reconociéndose como una pandemia mundial.

Se tomaron inicialmente medidas extremas de distanciamiento social llevadas a cabo por el gobierno chino. Posteriormente a nivel mundial, los diferentes países con brotes generalizados iniciaron medidas similares, incluyendo declaración de estado de alarma sanitaria, control fronterizo e implementación de medidas de aislamiento y cuarentena.

Al tratarse de un nuevo patógeno, las desconocidas características epidemiológicas y la dinámica de transmisión, complicaron el desarrollo y la evaluación de políticas de control.

1.7.1 Fisiopatología de la transmisión

Numerosos organismos, nacionales e internacionales (OMS, CDC, Ministerio de Sanidad español) (50–52), han descrito las diferentes vías de contagio entre humanos, mayoritariamente por vía respiratoria, que se exponen a continuación:

- Gotículas respiratorias: diámetro 100-1.000 micrómetros [μm]. El contagio puede ser directo (por contacto cercano, a menos de un metro, con una persona infectada con entrada a través de boca, nariz o conjuntiva) o indirecto (por contacto a través de fómites en el entorno inmediato de una persona infectada, siendo poco probable este medio de transmisión, ya que las cargas virales en

estas superficies se ha demostrado que son muy inferiores a las que se encuentran en nasofaringe).

- Aerosoles: núcleos goticulares con un diámetro $< 100 \mu\text{m}$. Representa una vía de transmisión menos importante que las gotículas respiratorias, pero puede resultar la vía principal en espacios cerrados, ya que debido a su tamaño, se mantienen suspendidos en el aire.

Por ello, la distancia social y la ventilación son parámetros claves en la transmisión.

Además, se ha detectado excreción viral en las heces, principalmente en niños, independientemente de la presencia de síntomas gastrointestinales (53). En un estudio realizado en Guangzhou (China), la PCR SARS-CoV-2 en el frotis rectal, fue positiva en ocho de cada diez pacientes pediátricos, y persistió detectable en el tiempo pese a su negativización en el frotis nasofaríngeo (54). En otro estudio realizado en Zhejiang (China) (17) encontraron que el 93% de los niños infectados por SARS-CoV-2 excretaban virus por las heces y que esta excreción podía durar hasta 70 días. Pese a ello, no se detectó transmisión de la infección desde niños con excreción viral en heces. Dado que tampoco se ha encontrado transmisión vía fecal-oral en otros virus respiratorios similares, los autores sugieren que no hay pruebas concluyentes de que el SARS-CoV-2 pueda causar enfermedad al ingerir alimentos o agua contaminados. Por lo tanto, se estipula que en pacientes con remisión clínica no debe considerarse este parámetro para decidir sobre el alta o alargar una cuarentena.

Aún se desconoce la causa de la excreción viral prolongada en las heces de los niños. Como el receptor del SARS-CoV-2, ACE2, se expresa en el epitelio gástrico, duodenal y

rectal en pacientes con COVID-19, podría conducir a la internalización y acumulación del virus en estos órganos, lo que podría explicar la eliminación prolongada del virus por vía fecal, aunque se necesitan más estudios para confirmar esta hipótesis.

1.7.2 Riesgo de transmisión del SARS-CoV-2

El riesgo de transmisión del SARS-CoV-2 depende de factores relacionados con el emisor, con el receptor y con el escenario.

Los factores relacionados con el emisor serían la carga viral, la concentración y tamaño de los aerosoles emitidos y el tiempo de emisión.

La capacidad de contagio de cada paciente depende de la cantidad del virus presente en sus vías respiratorias en ese momento, que varía a lo largo de la infección. El periodo de máxima infectividad, por una carga viral más elevada (más de 10^5 copias/ml), se considera entre dos días antes del inicio de los síntomas y 8 días después. En pacientes asintomáticos, la carga viral en nasofaringe sigue un patrón similar con un periodo de posible transmisión de 10 días (55).

Diversos estudios sugieren la hipótesis de que la mayor parte de la transmisión tiene lugar cerca o incluso antes del momento del inicio de los síntomas. Por otro lado, la diseminación viral prolongada generó preocupación al inicio de la pandemia, considerándose una posible infectividad prolongada de los pacientes y la necesidad de un aislamiento prolongado. Posteriormente se ha postulado que, aunque se detecte el virus durante una mediana mayor de días, la infectividad disminuye significativamente a partir de los 8 días después del inicio de los síntomas (55), por lo que el periodo de

infectividad es más corto que el periodo de ARN detectable en vías respiratorias altas. Estos resultados han contribuido a la disminución progresiva del periodo de cuarentena, salvo en los casos con síntomas persistentes.

Algunos estudios de rastreo de contactos muestran que el entorno de exposición de mayor riesgo de transmisión de COVID-19 son los propios domicilios (38,43), y que la mayoría de los niños infectados por SARS-CoV-2 adquirieron la infección dentro de su hogar procedente de un adulto infectado.

Diversos estudios también han centrado su interés en el riesgo de transmisión según la sintomatología del caso índice. Se ha descrito que los casos índice sintomáticos tienen una tasa de ataque secundario más alta en comparación con los casos índice asintomáticos (56). Estos hallazgos sugieren que las personas asintomáticas durante el curso de la enfermedad son responsables de menos infecciones secundarias que los casos sintomáticos y pre-sintomáticos. Aunque es necesario justificar mejor esta diferencia, puede deberse a una menor duración del periodo de infectividad.

Aunque es difícil estimar la proporción de transmisión pre-sintomática, es probable que los pacientes sean altamente infecciosos justo antes y alrededor del momento del inicio de los síntomas. De ahí radica la importancia de identificar y aislar de manera precoz a los pacientes con síntomas prodrómicos o leves, lo que puede evitar un número significativo de transmisión comunitaria.

Los factores relacionados con el receptor serían el volumen de aire inhalado, el tiempo de exposición, la concentración viral en los aerosoles inhalados, la posición y distancia

respecto al emisor, y la vulnerabilidad personal (factor poco conocido, en parte relacionado con receptores de enzima convertidor de angiotensina 2 [ACE2]).

Por último, los factores dependientes del escenario serían el nivel de transmisión comunitaria, el porcentaje de susceptibles, el tiempo, el espacio (exteriores e interiores...), la ventilación, y el comportamiento aerodinámico de las partículas.

1.7.3 Diferencias entre grupos de edad

En el momento de iniciar los estudios que conforman esta tesis, estaba en discusión si existían diferencias entre grupos de edad en cuanto a la capacidad de transmitir el virus SARS-CoV-2.

Aún no estaba clara la contribución de la población pediátrica en la transmisión del SARS-CoV-2. Al inicio de la pandemia, y bajo un escenario de transmisión descontrolada, se adoptaron estrictas medidas de confinamiento en España. Estas medidas fueron particularmente estrictas para los niños, incluido el cierre anticipado de las escuelas, con un confinamiento riguroso de los niños menores de 16 años en el domicilio y la recomendación de evitar el contacto, en la medida de lo posible, de los niños con los ancianos. La justificación de tales medidas se basó en el conocimiento hasta ahora existente de otros procesos infecciosos similares de origen viral, en los que se considera que los niños son los principales transmisores. Por lo tanto, se supuso que los niños podían actuar como principales transmisores del SARS-CoV-2 y que, hasta que se demostrara lo contrario, debían ser un objetivo de alta prioridad para el confinamiento (34).

En un metaanálisis (57) publicado en JAMA en 2021, se identificaron 32 estudios de 21 países diferentes que cumplieron con los criterios de elegibilidad y proporcionaron información sobre la susceptibilidad y la transmisión del SARS-CoV-2 en niños y adolescentes en comparación con adultos. En los estudios de seroprevalencia que se analiza a los niños por separado de los adolescentes, la mayoría de los estudios han coincidido con una seroprevalencia más baja en niños (menores de 10-14 años) en comparación con los adultos, aunque la seroprevalencia en adolescentes parece similar a la de los adultos en todos los estudios. Se han encontrado pocos datos sobre la transmisión posterior del SARS-CoV-2 de niños a otros, y de baja calidad, debido a la presencia de sesgos, tales como que muchos estudios tuvieron lugar en contexto de medidas de aislamiento estrictas y contactos reducidos fuera del domicilio. Aun y así, los estudios disponibles sugieren que los niños y adolescentes juegan un papel menor en la transmisión del SARS-CoV-2, lo que contrasta marcadamente con la gripe pandémica. Estudios que investiguen las infecciones secundarias de los casos índice de niños o adolescentes en comparación con las infecciones secundarias de los casos índice de adultos son particularmente necesarios para evaluar la transmisión. También serán importantes el seguimiento de las tasas de infección y los estudios de rastreo de contactos en los entornos escolares.

Por tanto, al inicio de la presente tesis, se desconocía el papel que desempeñaban los niños en la transmisión del virus que causa COVID-19, de cara a establecer medidas necesarias y políticas de control.

Con la aparición posterior de diferentes variantes de SARS-CoV-2 más altamente transmisibles y poco virulentas, como Delta y Ómicron, cambió el perfil de transmisibilidad igualando niños y adultos, pero pese al cambio de escenario, seguía existiendo mucho interés en el papel desarrollado por los niños en la transmisión del virus.

De esta manera surgen las preguntas de si los niños y niñas son igual de susceptibles que los adultos de infectarse por SARS-CoV-2 y si transmiten igual la infección.

2. JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS

El presente proyecto de investigación se sitúa en el contexto pre-variantes (variante Wuhan), momento en el que la susceptibilidad de los niños a la infección por SARS-CoV-2 era aún incierta. Tampoco se conocía la transmisibilidad de los niños, y las medidas extremas de aislamiento y el impacto de estas sobre los niños generaban gran preocupación, convirtiéndolos en las principales víctimas del confinamiento. Asimismo, también era desconocida la gravedad de la clínica que podía ocasionar el SARS-CoV-2 en los niños, así como la competencia del SARS-CoV-2 con otros virus.

En base a todo lo expuesto, se establecieron las siguientes hipótesis de trabajo:

1. Existen diferencias en la susceptibilidad a la infección por SARS-CoV-2 entre niños y adultos.
2. Los niños transmiten SARS-CoV-2 con menor frecuencia que los adultos.
3. El SARS-CoV-2 en pediatría causa una enfermedad respiratoria que tiene un impacto menor (menos ingresos) en comparación con otros virus respiratorios.

3. OBJETIVOS

De acuerdo con las hipótesis descritas, los objetivos de esta Tesis Doctoral son los siguientes:

Objetivos principales:

1. Evaluar la susceptibilidad a la infección por Coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo 2 (SARS-CoV-2) de la población pediátrica.
2. Analizar la contribución de los niños en la transmisión de SARS-CoV-2 dentro de los núcleos familiares.

Objetivos secundarios:

1. Evaluar la seroprevalencia de infección por SARS-CoV-2 en niños y contactos adultos convivientes con un primer caso adulto notificado con reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa en tiempo real (RT-PCR) positiva en condiciones de confinamiento domiciliario.
2. Describir las características clínicas de los pacientes pediátricos infectados por SARS-CoV-2.
3. Conocer las diferencias en el potencial de transmisión de la infección por SARS-CoV-2 de los niños respecto a los adultos.
4. Identificar factores asociados a una mayor transmisibilidad de SARS-CoV-2.
5. Describir las características clínicas, epidemiológicas y microbiológicas de los niños que requieren ingreso hospitalario por infección respiratoria de vías bajas durante la primera ola de pandemia por SARS-CoV-2.

4. METODOLOGÍA Y RESULTADOS

La presente tesis consta de tres artículos que se han realizado dentro de la plataforma de investigación Kids-Corona, creada por el Hospital Sant Joan de Déu durante la pandemia COVID-19, para dar respuesta, entre otras, a las hipótesis y objetivos planteados en este proyecto. El diseño de los estudios es unicéntrico y observacional.

La doctoranda es autora de los tres artículos que conforman la tesis.

4.1 PRIMER ARTÍCULO

4.1.1 Resumen del primer artículo

Susceptibilidad a la infección por SARS-CoV-2 en niños y adultos: un estudio de seroprevalencia en domicilios familiares de la Región Metropolitana de Barcelona, España

Metodología

Se trata de un estudio transversal de seroprevalencia con reclutamiento prospectivo de familias voluntarias que incluían al menos un adulto positivo por SARS-CoV-2 RT-PCR y al menos un niño menor de 15 años que convivían en el mismo hogar, bajo estricto confinamiento domiciliario, lo que aseguró una exposición similar de todos los contactos familiares a la infección independientemente de su edad.

Los domicilios familiares se identificaron dentro de la región sanitaria del área metropolitana de Barcelona (España), una zona geográfica densamente poblada que se convirtió en uno de los principales focos de la pandemia en España.

Se implementó una plataforma web abierta denominada Kids Corona a través de la cual se invitaba a las familias a participar en el estudio. Se examinaron a las familias elegibles según sus características demográficas, la ubicación de su residencia y la validez del primer resultado positivo de RT-PCR notificado.

El período de estudio abarcó del 28 de abril al 3 de junio de 2020.

A todos los miembros del domicilio se les realizó una serología rápida para SARS-CoV-2 en sangre capilar obtenida mediante punción digital. Se realizó un test rápido inmunocromatográfico (Immunochromatographic Lateral Flow Assay (LFA)) que detectaba IgG, IgM o ambos en la punción de sangre capilar obtenida en la visita domiciliaria. Se estableció un periodo de tiempo mínimo de 14 días entre la primera RT-PCR positiva y el LFA para maximizar la detección de seroconversión en los primeros casos notificados. La LFA se seleccionó como una prueba apropiada para el estudio por consideraciones éticas, a fin de evitar la extracción de sangre venosa en niños sanos o

asintomáticos, permitiendo realizar una prueba sencilla y rápida en los domicilios. Además, a todos los primeros casos positivos notificados que aceptaron, se les extrajo una muestra de sangre venosa para biobanco.

Se realizaron entrevistas siguiendo un cuestionario estructurado para obtener datos epidemiológicos y clínicos relevantes de los miembros de la familia.

Resultados

Los resultados de este primer estudio fueron:

1. Selección de domicilios familiares

Se incluyeron un total de 381 domicilios familiares, que incluían 381 adultos con PCR positiva para SARS-CoV-2 y 1.084 contactos (672 niños, 412 adultos).

2. Características demográficas de los núcleos familiares

Los domicilios familiares tenían entre 2 a 7 convivientes. Las mujeres predominaron entre los primeros casos reportados (62,2%), mientras que la mayoría de los contactos (niños: 53,1%; adultos: 57,0%) eran hombres. La edad media de los primeros casos adultos fue de 41,0 años. Los niños y contactos adultos tenían una edad media de 5,9 años y 40,0 años, respectivamente. Cabe destacar que el 68,9% de los primeros casos eran trabajadores sanitarios.

3. Características clínicas de los primeros casos reportados y de los contactos pediátricos

87 (22,8%) de los primeros casos reportados fueron hospitalizados debido a la infección por SARS-CoV-2 antes de estar confinados en el domicilio. Tras una regresión logística multivariante, la obesidad (odds ratio ajustada [aOR], 4,07; IC 95 %, 1,76–9,39), el sexo masculino (aOR, 3,13; IC 95 %, 1,73–5,65), y la edad ≥ 40 años (aOR, 2,28; IC 95 %, 1,25–4,16) se identificaron como factores de riesgo para la hospitalización, mientras que ser trabajador sanitario fue un factor protector (aOR, 0,19; 95% IC, 0,11–0,34).

Casi todos los contactos pediátricos positivos (99,9%) eran asintomáticos o habían tenido síntomas leves, excepto un caso que requirió ingreso hospitalario por MIS-C, con evolución clínica favorable.

4. Seropositividad de SARS-CoV-2 en los primeros casos reportados y factores asociados

Entre los primeros casos adultos notificados en la familia, las tasas de seropositividad variaron del 84,0% en adultos previamente hospitalizados y en aquellos testados dentro de las 6 semanas desde el primer resultado de PCR positiva, al 31,5% en aquellos no hospitalizados y analizados después de ese tiempo ($p < 0,001$).

5. Seroprevalencia de la infección por SARS-CoV-2 en los contactos domiciliarios y factores asociados

Las tasas de seroprevalencia de la infección por SARS-CoV-2 fueron del 17,6% (118/672) en niños y del 18,7% (77/335) en contactos adultos ($p=0,64$).

No se encontraron diferencias significativas en la seroprevalencia de SARS-CoV-2 asociadas al grupo de edad de los contactos, sexo de los contactos, hábitos tabáquicos o la tasa de ocupación del domicilio.

Un subanálisis de las tasas de seroprevalencia en los niños no mostró diferencias significativas por la presencia o ausencia de síntomas respiratorios, gastrointestinales o lesiones cutáneas durante los 4 meses previos. Por el contrario, el uso de transporte público en lugar de privado para ir a la escuela antes de que se aplicara el confinamiento domiciliario estaba asociado con los niños que eran seropositivos (33,3 % frente a 14,9%, $p < 0,001$).

Conclusión:

Los niños tienen una probabilidad similar que los adultos de infectarse por SARS-CoV-2 en domicilios familiares en cuarentena, pero permanecen mayoritariamente asintomáticos una vez infectados.

4.1.2 Documento del primer artículo

**Susceptibility to Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection Among
Children and Adults: A Seroprevalence Study of Family Households in the Barcelona
Metropolitan Region, Spain**

Brotons P, Launes C, Buetas E, Fumado V, Henares D, Fernandez de Sevilla M, Redin A,
Fuente-Soro L, Cuadras D, Mele M, Jou C, Millat P, Jordan I, Garcia-Garcia JJ, Bassat Q,
Muñoz-Almagro C; on behalf of Kids Corona Study Group

Artículo publicado en:

Clinical Infectious Diseases. 2021.

Volumen 72. Páginas: e970–e977.

Journal Citation Reports (JCR) 2021: Q1 Infectious Diseases

Factor de impacto 2021: 20.999

Susceptibility to Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection Among Children and Adults: A Seroprevalence Study of Family Households in the Barcelona Metropolitan Region, Spain

Pedro Brotons,^{1,2,3} Cristian Launes,^{1,3,4} Elena Buetas,¹ Vicky Fumado,^{1,4} Desiree Henares,^{1,3} Mariona Fernandez de Sevilla,^{1,3,4} Alba Redin,¹ Laura Fuente-Soro,⁵ Daniel Cuadras,¹ Maria Mele,^{1,4} Cristina Jou,⁶ Pere Millat,⁷ Iolanda Jordan,^{1,3,4} Juan Jose Garcia-Garcia,^{1,3,4} Quique Bassat,^{3,4,5,7,8} and Carmen Muñoz-Almagro^{1,2,3,9}, on behalf of Kids Corona Study Group

¹Institut de Recerca Sant Joan de Déu, Esplugues, Barcelona, Spain, ²Department of Medicine, Universitat Internacional de Catalunya, Barcelona, Spain, ³Consorcio de Investigación Biomédica en Red de Epidemiología y Salud Pública, Madrid, Spain, ⁴Pediatrics Department, Hospital Sant Joan de Déu, Universitat de Barcelona, Esplugues, Barcelona, Spain, ⁵Centro de Investigação em Saúde de Manhiça, Maputo, Mozambique, ⁶Department of Pathology and Biobank, Hospital Sant Joan de Déu, Esplugues, Barcelona, Spain, ⁷ISGlobal, Hospital Clínic–Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain, ⁸Institució Catalana de Recerca i Estudis Avançats, Pg. Lluís Companys 23, Barcelona, Spain, and ⁹Molecular Microbiology Department, Hospital Sant Joan de Deu, Esplugues, Barcelona, Spain

Background. Susceptibility of children and adults to severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection and persistence of antibody response to the virus after infection resolution remain poorly understood, despite their significant public health implications.

Methods. A prospective cross-sectional seroprevalence study with volunteer families that included at least 1 first-reported adult case positive by SARS-CoV-2 by polymerase chain reaction (PCR) and at least 1 child aged <15 years living in the same household under strict home confinement was conducted in the metropolitan Barcelona Health Region, Spain, during the pandemic period 28 April 2020–3 June 2020. All household members were tested at home using a rapid SARS-CoV-2 antibody assay with finger prick–obtained capillary blood.

Results. A total of 381 family households including 381 first-reported PCR-positive adult cases and 1084 contacts (672 children, 412 adults) were enrolled. SARS-CoV-2 seroprevalence rates were 17.6% (118 of 672) in children and 18.7% (77 of 335) in adult contacts ($P = .64$). Among first-reported cases, seropositivity rates varied from 84.0% in adults previously hospitalized and tested within 6 weeks since the first positive PCR result to 31.5% in those not hospitalized and tested after that lag time ($P < .001$). Nearly all (99.9%) positive children were asymptomatic or had mild symptoms.

Conclusions. Children appear to have similar probability as adults to become infected by SARS-CoV-2 in quarantined family households but remain largely asymptomatic. Adult antibody protection against SARS-CoV-2 seems to be weak beyond 6 weeks post-infection confirmation, especially in cases that have experienced mild disease.

Keywords. SARS-CoV-2; COVID-19; prevalence; household; antibody.

Coronavirus disease 2019 (COVID-19) has become a global public health problem since it emerged at the end of 2019 [1]. One of the countries most affected by the COVID-19 pandemic has been Spain, with more than 778 000 cases and 31 900 deaths confirmed as of 1 October 2020 [2]. The

national government declared a state of emergency on 14 March 2020, imposing strict confinement for the population and the closure of all educational, cultural, and leisure places across the country. Although children were initially subject to the same stringent quarantine measures as adults, daily outdoor strolls for those aged <14 years were allowed for no more than 1 hour on 26 April, in parallel with the progressive containment of the disease. The population-enforced lockdown concluded on 21 June.

The extent to which children may be less susceptible than adults to infection caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), the etiological agent of COVID-19, remains unclear [3]. A number of population-based studies [4–7] and clinical case series [8–10] have suggested that pediatric populations have comparatively lower probability of being infected by the virus. Contact-tracing studies show mixed evidence, with either reduced [11–13] or similar [14] infection

Received 21 August 2020; editorial decision 5 November 2020; published online 12 November 2020.

Correspondence: C. Muñoz-Almagro, Molecular Microbiology Department, Hospital Sant Joan de Deu, P^o Sant Joan de Deu, n^o 2, 08950 Esplugues, Barcelona (cma@sjdhospitalbarcelona.org).

Clinical Infectious Diseases® 2021;72(12):e970–7

© The Author(s) 2020. Published by Oxford University Press for the Infectious Diseases Society of America. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs licence (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>), which permits non-commercial reproduction and distribution of the work, in any medium, provided the original work is not altered or transformed in any way, and that the work is properly cited. For commercial re-use, please contact journals.permissions@oup.com
DOI: 10.1093/cid/ciaa1721

rates in children compared with adults. Duration of antibody protection against the virus is unknown, and some early findings have suggested that it might not persist long once the infection has been resolved [15, 16].

SARS-CoV-2 may be identified by serological detection of antibodies in blood or serum samples once seroconversion has been completed after the first week of symptom onset [17] or by viral RNA detection in upper respiratory or other samples using real-time reverse-transcription polymerase chain reaction (rRT-PCR) during the days immediately after symptom onset [18]. Household serological studies are suitably designed to provide strong evidence of susceptibility to SARS-CoV-2 infection, disease spectrum, and antibody protection in defined, stable, easy-to-follow clusters of confirmed primary cases and their close contacts [19]. Ultimately, such evidence proves essential to inform age-selective or indiscriminate home quarantine measures and for the reopening of schools.

Our primary objectives in this study were to assess seroprevalence of SARS-CoV-2 infection in children and adult contacts living with first-reported PCR-positive adult cases in quarantined family households and to determine persistence of antibody response in cases while identifying associated factors.

METHODS

Study Design

A cross-sectional seroprevalence study with recruitment of volunteer families that included at least 1 first-reported parent positive by SARS-CoV-2 RT-PCR and at least 1 child living in the same household was conducted by researchers at the University Hospital Sant Joan de Deu Barcelona. Family households were identified within the Health Region of metropolitan Barcelona, a densely populated geographical area that became one of the main focuses of the pandemic in Spain. The study period spanned from 28 April 2020 to 3 June 2020.

Definitions

A family household was defined as a household where at least 1 parent aged ≥ 18 years and 1 child aged < 15 years lived together. A COVID-19 first-reported adult case was defined as the parent in the household who had a first confirmed positive result for SARS-CoV-2 RNA detection in a nasopharyngeal swab. An infected contact was defined as a household child or adult, other than the first-reported case, who was found positive for SARS-CoV-2 using a rapid immunochromatographic lateral flow assay (LFA) that detected immunoglobulin G (IgG), IgM, or both in finger prick–obtained capillary blood at the household visit. LFA was selected as an appropriate test for the study for ethical considerations, avoiding extraction of venous blood from healthy or asymptomatic children, and enabled simple and rapid testing at homes. The SARS-CoV-2 household seroprevalence rate was calculated as the proportion of family contacts

who were confirmed to be infected using the rapid LFA. Lag time elapsed between the first positive RT-PCR and the rapid LFA was considered as a proxy measure of SARS-CoV-2 antibody response persistence in first-reported cases.

Family Household Identification

The study setting, a tertiary-level university children's hospital located in metropolitan Barcelona, deployed an open web platform named Kids Corona through which families were invited to participate in the study. A team of epidemiological researchers screened eligible families according to their demographic characteristics, residence location, and documented validity of the first-reported RT-PCR–positive result.

Data and Sample Collection

Home testing teams, each composed of 2 research nurses, visited every selected household, collected finger-prick capillary blood from all family members, and performed rapid LFAs at homes. Additionally, venous blood was extracted from all first-reported cases who agreed to donate their blood to the study site's biobank. Blood extraction was carried out in parallel with rapid LFA testing during household visits. Serum samples obtained from blood were biobanked at -80°C at the study site. The epidemiological researchers interviewed every first-reported case by telephone 24 hours after sample collection. Interviews followed a structured questionnaire to obtain relevant epidemiological and clinical data of family members. Families with any invalid test result or that were not able to answer the questionnaire were excluded from the study.

Microbiological Methods for SARS-CoV-2 Antibody Detection

Rapid IgG/IgM COVID-19 tests (2019-n-CoV Ab Test, Innovita Tangshan Biological Technology Co, China) were performed according to the manufacturer's instructions. A minimum lag time of 14 days between the first positive RT-PCR and the LFA was established to maximize detection of seroconversion in first-reported cases. Since sensitivity of the rapid LFA that we used has been reported to vary from 29.5% in the first 1–5 days after symptom onset to 83.3% after 20 days [20], a performance comparison was undertaken with paired finger-prick capillary blood specimens already tested using rapid LFA and biobanked serum samples tested using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (Abbott SARS-CoV-2 IgG).

Statistical Analyses

SARS-CoV-2 household seroprevalence and seropositivity rates were compared using the χ^2 test or Fisher exact test. Univariate logistic regression analyses were performed to study the associations of clinical and epidemiological variables with SARS-CoV-2 seroprevalence and antibody response, considering those variables that showed a relationship with these outcomes at a P value $\leq .10$ for multivariate analysis. Statistical significance was

set at $P < .05$ and confidence intervals (CIs) at 95%. All statistical analyses were performed using Stata v.15 software (StataCorp, College Station, TX).

Ethics Statement

Every adult household member gave an informed consent to participate. Informed consents were obtained from parents/guardians of children who participated in the study, as well as assents from every child aged ≥ 12 years. The Ethics Committee of Hospital Sant Joan de Deu approved the study prior to start.

RESULTS

Selection of Family Households

A total of 2412 families showed interest in participating in the study, of which 1359 met inclusion criteria. A total of 410 families documented a first RT-PCR–positive result for a household adult case, signed informed consents for participation, and were visited and tested using rapid LFA. Of them, 26 were excluded due to invalid LFA results in any family member, and 3 declined to answer the questionnaire and were also excluded. A final number of 381 family households were selected.

Demographic Characteristics of Family Households

A total of 1465 family members were identified in the selected households, including 381 (26.0%) first-reported adult cases, 672 (45.9%) child contacts (aged < 15 years), and 412 (28.1%) adult contacts (aged ≥ 15 years). Family households ranged from 2 to 7 cohabitants. Women predominated among first-reported cases ($n = 237$, 62.2%), whereas the majority of contacts (children: $n = 357$, 53.1%; adults: $n = 235$, 57.0%) were male. Mean age of adult cases was 41.0 years (standard deviation [SD], 5.9). Children and adult contacts had a mean age of 5.9 years (SD, 3.7) and 40.0 years (SD, 10.2), respectively. Of note, 68.9% of cases were healthcare workers (Table 1).

Clinical Characteristics of First-Reported Cases and Child Contacts

Overall, 87 (22.8%) first-reported cases were hospitalized due to SARS-CoV-2 infection before being confined at home. Mean length of hospital stay was 8.1 days (SD, 6.4). Comorbidities were self-reported by 20.2% of cases, and obesity (12.1%) was the most common comorbid condition (Table 2). In a multiple logistic regression, obesity (adjusted odds ratio [aOR], 4.07; 95% CI, 1.76–9.39), male sex (aOR, 3.13; 95% CI, 1.73–5.65), and age ≥ 40 years (aOR, 2.28; 95% CI, 1.25–4.16) were identified as risk factors for case hospitalization, whereas being a healthcare worker was a protective factor (aOR, 0.19; 95% CI, .11–.34; Table 3). Nearly all child contacts (99.9%) were paucisymptomatic or asymptomatic, except for a positive female who was hospitalized due to multisystemic inflammatory

Table 1. Demographic Characteristics of the Study Population

Variable	No. (%)
Total family households	381 (100.0)
Household mean surface area (SD), m ²	102.3 (43.0)
Total family members	1465 (100.0)
2	9 (2.4)
3	114 (29.9)
4	197 (51.7)
≥ 5	61 (16.0)
Primary cases	381 (26.0)
Mean age (SD), years	41.0 (5.9)
15–24	1 (0.3)
25–34	47 (12.3)
35–44	246 (64.6)
45–55	82 (21.5)
≥ 55	5 (1.3)
Sex, female	237 (62.2)
Healthcare worker	261 (68.9)
Child contacts	672 (45.9)
Mean age (SD), years	5.9 (3.7)
< 1	35 (5.2)
1–4	297 (44.2)
5–14	340 (50.6)
Sex, male	357 (53.1)
Adult contacts	412 (28.1)
Mean age (SD), years	40.0 (10.2)
15–24	32 (7.8)
25–34	48 (11.7)
35–44	230 (55.8)
45–55	87 (21.1)
≥ 55	15 (3.6)
Sex, male	235 (57.0)

Values expressed as number (%), unless otherwise stated
Abbreviation: SD, standard deviation.

Table 2. Clinical Characteristics of First-Reported Cases

Variable	No. (%)
Hospitalization due to severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection	87 (22.8)
Mean length of hospital stay (standard deviation), days	8.1 (6.4)
Main comorbidities	77 (20.2)
Obesity	46 (12.1)
Hypertension	14 (3.7)
Immunocompromised	10 (2.6)
Diabetes	7 (1.8)
Autoimmune disease	27 (7.1)
Asthma	19 (5.0)
Past medical history	
Recent respiratory infection ^a	35 (9.2)
Recent gastrointestinal infection ^a	51 (13.4)
Previous invasive disease infection	25 (6.6)

Values expressed as number (%), unless otherwise stated.

^aSince January 2020.

Table 3. Factors for Hospitalization of First-Reported Cases With Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection

Variable	Group 1 ^{a,b}	Group 2 ^{a,b}	Univariate Analysis		Multivariate Analysis	
	% Hospitalized	% Hospitalized	OR (95% CI)	PValue	aOR (95% CI)	PValue
Healthcare worker vs other professions	11.9	47.5	0.15 (0.09–.25)	<.001	0.19 (.11–.34)	<.001
Sex, male vs female	39.6	12.7	4.52 (2.72–7.51)	<.001	3.13 (1.73–5.65)	<.001
Age, ≥40 vs <40 years	31.5	13.6	2.92 (1.74–4.90)	<.001	2.28 (1.25–4.16)	.01
Hypertension, yes vs no	57.1	21.5	4.86 (1.64–14.42)	.01	2.28 (.62–8.39)	.21
Obesity, yes vs no	37.0	20.9	2.22 (1.15–4.27)	.02	4.07 (1.76–9.39)	.001
Previous invasive disease infection, yes vs no	40.0	21.7	2.41 (1.04–5.58)	.04	1.71 (.64–4.55)	.28
Immunocompromised, yes vs no	20.0	23.0	0.84 (.17–4.02)	.83		
Autoimmune diseases, yes vs no	22.2	22.9	0.96 (.38–2.47)	.94		
Asthma, yes vs no	31.6	22.4	1.60 (.59–4.35)	.36		
Recent respiratory infection, ^c yes vs no	25.7	22.9	1.17 (.52–2.60)	.71		
Recent gastrointestinal infection, ^c yes vs no	29.4	22.1	1.47 (.76–2.83)	.25		

Statistically significant OR, aOR, and P values < .05 are marked in bold. Abbreviations: CI, confidence interval; OR, odds ratio; aOR, adjusted odds ratio.

^aGroup 1 refers to the category mentioned in the first place for any variable included in the Variable column (ie, healthcare worker) and Group 2 refers to the category mentioned in the second place (ie, other professions).

^bGroups ≥10 observations.

^cSince January 2020.

syndrome (Kawasaki-like) and evolved positively during and after her stay at the study site.

Verification of SARS-CoV-2 Rapid LFA Sensitivity

A total of 250 biobanked serum samples were tested using ELISA, and results were compared with those of finger-prick capillary blood specimens processed using rapid LFA. Mean time elapsed between first positive RT-PCR and rapid LFA for the overall collection of 1465 specimens was 51.2 days (interquartile range [IQR], 42–61); for the 250 paired samples additionally tested using ELISA, it was 49.8 mean days (IQR, 40–60). Seropositivity rates for rapid LFA were low at weeks 3–4 (46.2%), increased up to a peak at week 6 (70.6%), and

then dropped markedly to a plateau (range, 35.0%–37.2%) within weeks 8–12. ELISA seropositivity rates showed a similar pattern: detection yield was moderate at weeks 3–4 (61.5%), peaked at week 6 (94.1%), and slowly stabilized in weeks 8–12 (range, 77.5%–87.2%). Overall, ELISA detection yield was 1.3 times higher than that of rapid LFA in the first 6 weeks after infection confirmation and doubled rapid LFA detection yield beyond that time threshold (Figure 1).

SARS-CoV-2 Seropositivity in First-Reported Cases and Associated Factors

A positive result of SARS-CoV-2 using rapid LFA (IgM, IgG, or both targets) was found in 175 (45.9%) of first-reported cases, including 32.3% IgG-positive, 11.0% IgG- and IgM-positive,

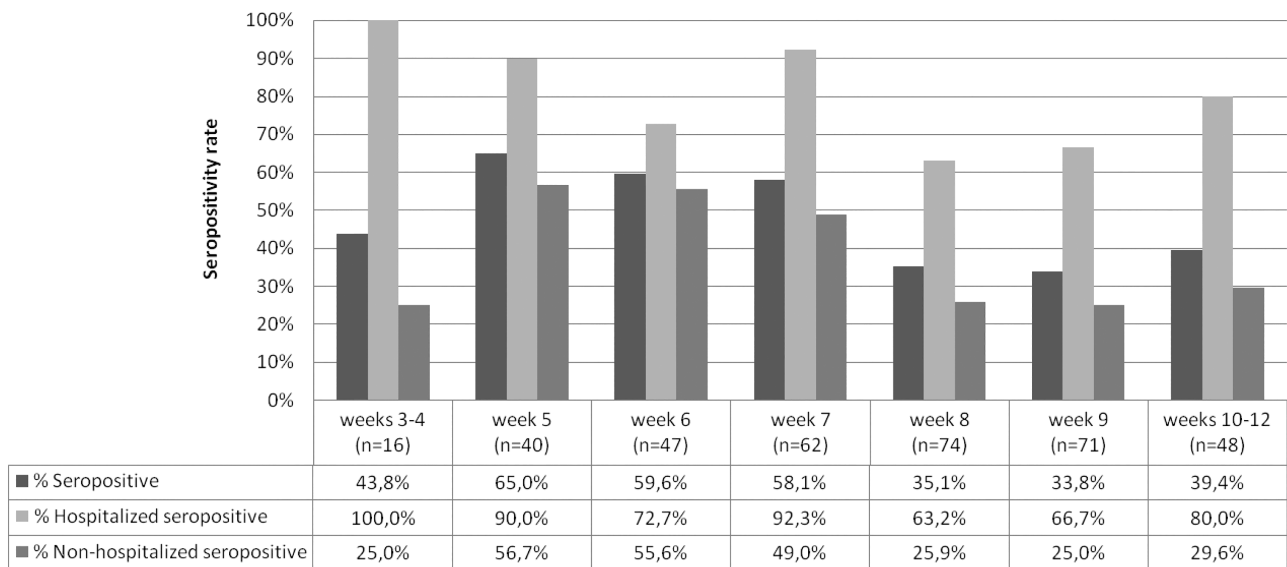


Figure 1. Seropositivity of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 antibodies detected by rapid antibody assay in first-reported cases according to time of convalescence (total samples, N = 381).

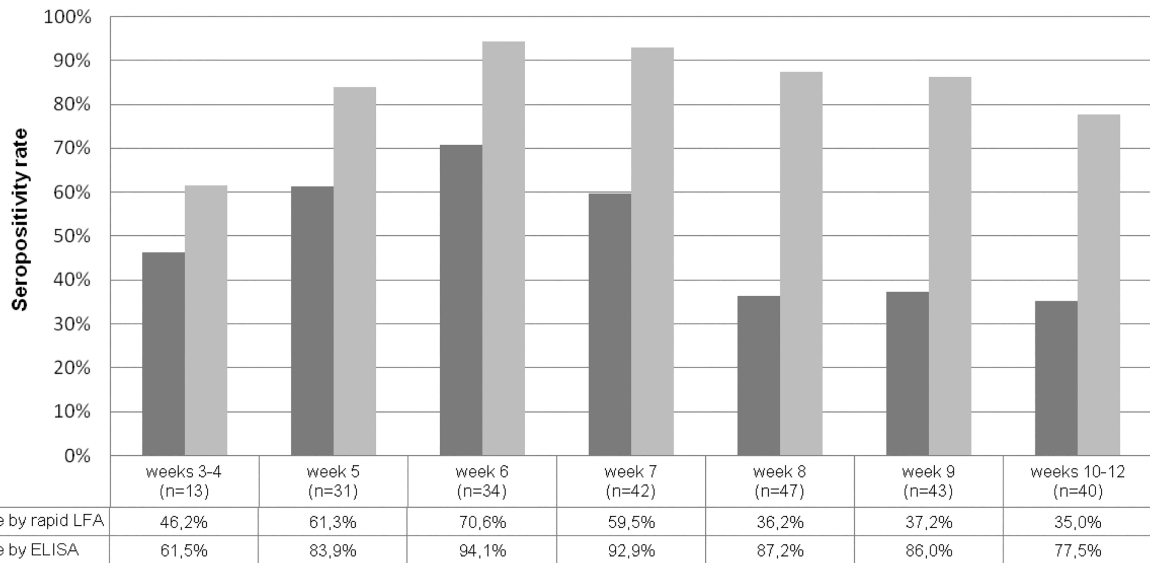


Figure 2. Seropositivity of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 antibodies detected by rapid antibody assay and ELISA in first-reported cases according to time of convalescence (total paired samples, N = 250). Abbreviations: ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay; LFA, lateral flow assay.

and 2.6% IgM-positive. SARS-CoV-2 seropositivity rates in the collection of 381 samples showed the same inverted U-shaped pattern observed for the 250 paired specimens (Figure 2). In multiple logistic regression, hospitalization (aOR, 5.59; 95% CI, 2.99–10.46) and time of convalescence ≤ 6 weeks (aOR, 2.15; 95% CI, 1.30–3.56) were significantly associated with SARS-CoV-2 seropositivity (Table 4). In particular, marked differences between seropositivity rates before and after the convalescence time threshold of 6 weeks were observed among healthcare workers (aOR, 2.40; 95% CI, 1.31–4.38), women (aOR, 2.39; 95% CI, 1.24–4.62), and cases not hospitalized (aOR, 2.35; 95% CI, 1.36–4.08). Conversely, differences in SARS-CoV-2

antibody detection before and after this time threshold were not significant in cases other than healthcare workers, males, and inpatients.

Seroprevalence of SARS-CoV-2 Infection in Household Contacts and Associated Factors

Among the 1084 household contacts, 195 (18.1%) were SARS-CoV-2-positive by rapid LFA, including 118 of 672 children (17.6%; 95% CI, 14.8%–20.7%) and 77 of 412 adults (18.7%; 95% CI, 15.0%–22.8%). The difference in SARS-CoV-2 seroprevalence rates between children and adult contacts was not statistically significant ($P = .64$). Contact age group, contact sex, smoking

Table 4. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Seropositivity in First-Reported Cases and Associated Factors

Variable	Group 1 ^{a,b}	Group 2 ^{a,b}	Univariate Analysis		Multivariate Analysis	
	% Positive	% Positive	OR (95% CI)	P Value	aOR (95% CI)	P Value
Infection severity, patient not hospitalized vs hospitalized	76.7	37.1	5.68 (3.26–9.87)	<.001	5.59 (2.99–10.46)	<.001
Time of convalescence, ≤ 6 vs > 6 weeks	58.8	41.0	2.06 (1.30–3.26)	.002	2.15 (1.30–3.56)	.003
Profession, healthcare worker vs others	40.2	59.0	0.46 (.30–.72)	.001	0.76 (.46–1.28)	.31
Age, ≥ 40 vs < 40 years	52.3	39.1	1.70 (1.13–2.56)	.01	1.11 (.70–1.75)	.66
Sex, male vs female	52.8	41.8	1.56 (1.03–2.36)	.04	0.85 (.52–1.39)	.52
Recent respiratory infection, ^c yes vs no	31.4	47.9	0.49 (.23–1.04)	.06	0.43 (.19–.98)	.05
Asthma, yes vs no	63.2	44.9	2.09 (.80–5.44)	.13		
Previous invasive disease infection, yes vs no	60.0	45.1	1.81 (.79–4.14)	.16		
Obesity, yes vs no	53.3	44.8	1.47 (.79–2.73)	.22		
Hypertension, yes vs no	50.0	45.6	1.18 (.41–3.44)	.76		
Autoimmune disease, yes vs no	48.2	45.6	1.10 (.50–2.40)	.81		
Recent gastrointestinal infection, ^c yes vs no	47.1	46.2	1.03 (.57–1.86)	.92		

Statistically significant OR, aOR, and P values $< .05$ are marked in bold. Abbreviations: CI, confidence interval; OR, odds ratio; aOR, adjusted odds ratio.

^aGroup 1 refers to the category mentioned in the first place for any variable included in the Variable column (ie, healthcare worker) and Group 2 refers to the category mentioned in the second place (ie, other professions).

^b ≥ 10 observations per group.

^cSince January 2020.

Table 5. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Household Seroprevalence

Variable	Total No.	No. Positive	Prevalence Rate (95% Confidence Interval)	P Value
Family households	381	127	33.3 (28.6–38.3)	
Contact groups				.64
Children contacts (aged <15 years)	672	118	17.6 (14.8–20.7)	
Adult contacts (aged ≥18 years)	412	77	18.7 (15.0–22.8)	
Contact age groups, years				.50
<1	35	6	17.1 (6.6–33.6)	
1–4	297	57	19.2 (14.9–24.1)	
5–14	340	55	16.2 (12.4–20.5)	
15–24	32	5	15.6 (5.3–32.8)	
25–34	48	13	27.1 (15.3–41.8)	
35–44	230	36	15.7 (11.2–21.0)	
45–54	87	19	21.8 (13.7–32.0)	
≥55	15	4	26.7 (7.8–55.1)	
Contact sex				.47
Female	492	93	18.9 (15.5–22.6)	
Male	592	102	17.2 (14.3–20.5)	
Smoking habits of family members				.81
Yes	232	43	18.5 (13.8–24.1)	
No	852	152	17.8 (15.3–20.6)	
Household occupancy rate				.13
<20 m ² per person	374	77	20.6 (.17–.25)	
≥20 m ² per person	702	118	16.8 (.14–.20)	

Values expressed as number (%), unless otherwise stated.

habits of family members, and household occupancy rate were not found to be significantly associated with SARS-CoV-2 seroprevalence (Table 5). A subanalysis of seroprevalence rates in children did not show any significant differences by the presence or absence of respiratory (19.2% vs 17.5%, $P = .82$) or gastrointestinal symptoms (21.1% vs 17.0%, $P = .31$) or of cutaneous lesions (19.8% vs 17.2%, $P = .48$), as reported by their parents in the previous 4 months. In contrast, the use of public instead of private transportation to go to school before home confinement was enforced was strongly associated with children being seropositive (33.3% vs 14.9%, $P < .001$; Supplementary Table 1).

DISCUSSION

Here, we report similar SARS-CoV-2 seroprevalence rates in children and adult contacts who live with first-reported adult cases in family households under stringent home quarantine conditions. We also note the predominance of asymptomatic presentations among infected child contacts and identify an inverted U-shaped pattern of weak antibody response against SARS-CoV-2 among adult cases in the early convalescence stage and beyond a post-infection time threshold of 6 weeks, particularly in those with mild disease who were not hospitalized. Interestingly, this pattern was not observed only in capillary blood samples tested using rapid LFA but also and more subtly in serum samples tested using ELISA.

Our observation of similar rates of SARS-CoV-2 infection in children and adult contacts is in agreement with results

from a study of 391 COVID-19 cases and close family and nonfamily contacts conducted in Shenzhen, China [14]. In that study, minor differences in infection rates were reported in children (7.4% in those aged <10 years, 7.1% in those aged 10–19 years) compared with adults (in the range of 6.1%–9.1% for those aged between 20 and 59 years). Notably, seroprevalence rates determined in our study exceed those values by more than 2 times. This difference could be related to the fact that identification of secondary cases in the referred study was done using RT-PCR in a single determination in a very acute scenario, whereas we used serology assays at 3–12 weeks after first-reported case confirmation. In turn, a study with 105 cases and their household contacts in Hubei Province, China, identified a lower infection rate of 4% in children aged <18 years in comparison with 17.1% in adults [21]. Similarly, age-gradient household prevalence rates that ranged from 20.0% among child contacts aged <5 years to 55.2% among adults aged ≥65 years were reported in a household prevalence study conducted in New York State [22]. Of note, these 2 studies used RT-PCR to identify cases, as opposed to our seroprevalence study. We speculate that age-related prevalence differences between serological and RT-PCR-based household studies could be originated by faster clearance of the virus in children than in adults, regardless of their similar susceptibility to infection, resulting in fewer children being identified as positive using RT-PCR compared with serology. On the other hand, sex of household contacts, smoking habits of family members, and household occupancy rate were not

associated with SARS-CoV-2 susceptibility to infection, as reported in other household studies [12, 13, 23, 24].

Seropositivity rates against SARS-CoV-2 were markedly lower in first-reported adult cases who were tested in an early convalescence stage (≤ 4 weeks) and at a later post-infection stage (> 6 weeks). This finding was observed in both the overall collection of 381 samples tested using rapid LFA and in the representative set of 250 paired samples also tested using ELISA. It raises concerns about reliability of results by rapid LFAs performed in the first weeks after infection and about long-term persistence of antibody response to the virus, since noticeable proportions from 12.8% to 22.5% of convalescent adults had negative results by ELISA 8–12 weeks after infection confirmation. Also of note, antibody protection was weaker in cases who were not hospitalized, suggesting that infection severity may provoke a comparatively stronger response. The time-dependent SARS-CoV-2 antibody response pattern described in this study is in contrast with the observed persistence of antibodies in SARS-CoV-1, its closest-related human coronavirus, from 1 to 2 years [24]. However, it aligns with results recently reported on SARS-CoV-2 antibody decay during convalescence. A preprint study describes loss of IgM antibodies in 31.4% of 1470 adult patients hospitalized with COVID-19 after a median time of 41 days since symptoms onset, as well as loss of IgG antibodies in more than 10% of them after 21 days post-symptom onset [15]. Another study with 37 asymptomatic but SARS-CoV-2–positive patients of all ages and equal number with severe symptoms found that 40% of asymptomatic individuals had undetectable levels of antibodies 2 months after infection compared with 13% of those who were symptomatic [16].

While adults infected with SARS-CoV-2 and particularly the elderly are likely to experience serious disease and require clinical attention, children frequently present no or mild symptoms that resolve without medical intervention [25]. In agreement with previous literature, almost all infected children in our study were asymptomatic or had mild presentations. Interestingly, we did not find any significant difference in SARS-CoV-2 seroprevalence between children with or without respiratory or gastrointestinal symptoms or with cutaneous lesions, which confirms the unprecedented challenge of early diagnosis and transmission control of the virus in pediatric populations. SARS-CoV-2 infection in child contacts was positively correlated with the use of public transportation to go to school, a risk factor presumably related to overcrowding. Similar risk factors of traveling together and of sharing a vehicle have also been described in other studies [14, 23]. Moreover, indoor air quality has previously been associated with transmission risk of the virus in closed settings [26], and the World Health Organization guidelines have recently considered that airborne transmission may occur in crowded, poorly ventilated indoor environments [27]. However, we did not find any significant relationships between high household occupancy, a proxy for overcrowding, or

smoking habits of family members, indicative of suboptimal indoor air quality, with SARS-CoV-2 household seroprevalence. A possible explanation for this could be that other behavior factors such as adherence of family members to hygiene measures, face mask use at home, and effective self-isolation of cases initially reported may have been more influential in minimizing household virus transmission [23, 28].

The main strength of our study is that we analyzed information on SARS-CoV-2 prevalence and antibody response using a large number of family households located in a geographical area of high COVID-19 incidence during the study period. Additionally, the study was conducted under strict home quarantine that ensured similar exposure of all family contacts to infection irrespective of their age, thus avoiding biased assessment according to their different social interactions out of the home. A limitation of the study was the imperfect sensitivity of the rapid LFA as well as the reduced number of antibody classes targeted by the test. Nevertheless, we consider that any potential bias derived from suboptimal test sensitivity would comparatively affect identification of infected child and adult contacts to the same extent. A second limitation that derived from the cross-sectional design was the impossibility to discern whether the cases initially identified were the first family members to become infected or not. The time elapsed between positive RT-PCR and rapid LFA (range, 17–82 days) and evidence of the mean incubation period for SARS-CoV-2 (about 4–6 days with 95% of individuals presenting with symptoms within 12 days) [29–31] point toward the plausibility that those first-reported cases were the primary vectors of infection in their homes. Indeed, a recent nationwide study undertaken in South Korea reported that only 46 of 1248 (3.7%) household contacts were infected by children aged 0–18 years [32]. Likewise, a systemic review available in preprint notes that children are likely to be the source of infection in only 10% of households [33].

In conclusion, children appear to be as susceptible to SARS-CoV-2 infection as adults in family households under strict in-home quarantine but remain mostly asymptomatic once infected. Antibody response to infection of adults seems to be weak at an early convalescence stage and beyond 6 weeks post-infection confirmation, particularly among those who have experienced milder infection. Further household studies are needed to determine temporal patterns of antibody response against the virus in children and adults.

Supplementary Data

Supplementary materials are available at *Clinical Infectious Diseases* online. Consisting of data provided by the authors to benefit the reader, the posted materials are not copyedited and are the sole responsibility of the authors, so questions or comments should be addressed to the corresponding author.

Notes

Author contributions. P. B. designed the study, analyzed data, and wrote the manuscript. C. L. collected data, analyzed data, and wrote the manuscript. E. B. collected data and performed experiments. V. F. collected data.

D. H. collected data and performed experiments. M. F. de S. collected data. A. R. collected data and performed experiments. L. F.-S. collected data. D. C. collected data. M. M. collected data. C. J. collected data. P. M. collected data. I. J. collected data. J. J. G.-G. collected data. Q. B. designed the study and collected data. C. M.-A. designed the study, analyzed data, wrote the manuscript, and supervised the study. All authors and the Kids Corona Study Group discussed the results and critically reviewed, discussed, and accepted the final version of the manuscript.

Acknowledgments. The authors are indebted to the Biobanc de l'Hospital Infantil Sant Joan de Déu per a la Investigació, which is integrated into the Spanish Biobank Network of Instituto de Salud Carlos III. The authors acknowledge the contributions of Jesus Velasco and Manuel Montsonis for performing enzyme-linked immunosorbent assay tests.

Disclaimer. The funding sources had no role in writing the manuscript and in the decision to submit it for publication.

Financial support. This work was supported by the Kids Corona Project, Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona, Spain, which received donations from Stavros Niarchos Foundation and Banco de Santander. ISGlobal (Q. B., P. M.) receives support from the Spanish Ministry of Science and Innovation through the Centro de Excelencia Severo Ochoa 2019–2023 Program (CEX2018-000806-S) and support from the Generalitat de Catalunya through the Centres de Recerca de Catalunya Program. Centro de Investigação em Saúde de Manhiça (Q. B., P. M.) is supported by the government of Mozambique and the Spanish Agency for International Development.

Potential conflicts of interest. C. M.-A. reports grants to her organization from BioMérieux, Roche Diagnostics, Qiagen, BioFire Diagnostics, Alere, and Genomica outside the submitted work, and C. M.-A. has received personal fees from BioMérieux, Roche Diagnostics, and Qiagen for presentations at satellite symposiums outside the submitted work. P. B. reports personal fees from Roche Diagnostics for a presentation at a satellite symposium outside the submitted work. All other authors report no potential conflicts. All authors have submitted the ICMJE Form for Disclosure of Potential Conflicts of Interest. Conflicts that the editors consider relevant to the content of the manuscript have been disclosed.

KIDS-Corona Study Group members. Cristina Adroher, Laia Alsina, Sara Ajanovic, Ainhoa Andueza, Sara Arias, Nuria Balanza, Barbara Baro, Elisenda Bonet-Carne, Joana Claverol, Marta Cubells, Claudia Fortuny, Aleix Garcia-Miguel, Eduard Gratacos, Maria Hernandez, Monica Morales, Felipe Pérez-Soler, María Ríos, Pere Millat, Gemma Pons, Francesc Torrents, Iris Uribesalgo, Anna Valls, and Rosauero Varo.

References

- World Health Organization. Novel coronavirus—China. Available at: <http://www.who.int/csr/don/12-january-2020-novel-coronavirus-china/en/>. Accessed 31 July 2020.
- Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias Sanitarias. Actualización n. 219. Enfermedad por el coronavirus (COVID-19). 01.10.2020. Available at: https://www.mscbs.gob.es/en/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov-China/documentos/Actualizacion_219_COVID-19.pdf. Accessed 1 October 2020.
- Lee PI, Hu YL, Chen PY, Huang YC, Hsueh PR. Are children less susceptible to COVID-19? *J Microbiol Immunol Infect* **2020**; 53:371–2.
- Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: summary of a report of 72 314 cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA* **2020**; doi:10.1001/jama.2020.2648
- Centers for Disease Control and Prevention COVID-19 Response Team. Coronavirus disease 2019 in children—United States, February 12–April 2, 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* **2020**; 69:422–6.
- Gudbjartsson DF, Helgason A, Jonsson H, et al. Spread of SARS-CoV-2 in the Icelandic population. *N Engl J Med* **2020**; 382:2302–15.
- 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**; doi:10.1016/S0140-6736(20)31483-5.
- Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* **2020**; 395:497–506.
- Docherty AB, Harrison EM, Green CA, et al; ISARIC4C Investigators. Features of 20 133 UK patients in hospital with covid-19 using the ISARIC WHO clinical characterisation protocol: prospective observational cohort study. *BMJ* **2020**; 369:m1985.
- Tagarro A, Epalza C, Santos M, et al. Screening and severity of coronavirus disease 2019 (COVID-19) in children in Madrid, Spain. *JAMA Pediatr* **2020**; e201346. doi:10.1001/jamapediatrics.2020.1346.
- Zhang J, Litvinova M, Liang Y, et al. Changes in contact patterns shape the dynamics of the COVID-19 outbreak in China. *Science* **2020**; 368:1481–6.
- Cheng HY, Jian SW, Liu DP, et al. Contact tracing assessment of COVID-19 transmission dynamics in Taiwan and risk at different exposure periods before and after symptom onset. *JAMA Intern Med* **2020**; e202020. doi:10.1001/jamainternmed.2020.2020.
- Jing QL, Liu MJ, Zhang ZB, et al. Household secondary attack rate of COVID-19 and associated determinants in Guangzhou, China: a retrospective cohort study. *Lancet Infect Dis* **2020**; doi:10.1016/S1473-3099(20)30471-0.
- Bi Q, Wu Y, Mei S, et al. Epidemiology and transmission of COVID-19 in 391 cases and 1286 of their close contacts in Shenzhen, China: a retrospective cohort study. *Lancet Infect Dis* **2020**; doi:10.1016/S1473-3099(20)30287-5.
- Liu T, Wu S, Tao H, et al. Prevalence of IgG antibodies to SARS-CoV-2 in Wuhan—implications for the ability to produce long-lasting protective antibodies against SARS-CoV-2. medRxiv [Preprint]. **2020**. doi:10.1101/2020.06.13.20130252.
- Long Q, Tang X, Shi Q, et al. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. *Nat Med* **2020**; doi:10.1038/s41591-020-0965-6.
- Guo L, Ren L, Yang S, et al. Profiling early humoral response to diagnose novel coronavirus disease (COVID-19). *Clin Infect Dis* **2020**; 71(15):778–85.
- Zou L, Ruan F, Huang M, et al. SARS-CoV-2 viral load in upper respiratory specimens of infected patients. *N Engl J Med* **2020**; 382:1177–9.
- World Health Organization. Household investigation protocol for coronavirus disease 2019 (COVID-19). **2020**. Available at: [https://www.who.int/publications/i/item/household-transmission-investigation-protocol-for-2019-novel-coronavirus-\(2019-ncov\)-infection](https://www.who.int/publications/i/item/household-transmission-investigation-protocol-for-2019-novel-coronavirus-(2019-ncov)-infection). Accessed 28 July 2020.
- Whitman JD, Hiatt J, Mowery CT, et al. Test performance evaluation of SARS-CoV-2 serological assays. medRxiv [Preprint]. **2020**. doi:10.1101/2020.04.25.20074856.
- Li W, Zhang B, Lu J, et al. The characteristics of household transmission of COVID-19. *Clin Infect Dis* **2020**; 71(8):1943–6.
- Rosenberg ES, Dufort EM, Blog DS, et al. COVID-19 testing, epidemic features, hospital outcomes, and household prevalence, New York State—March 2020. *Clin Infect Dis* **2020**; 71(8):1953–9.
- Wu J, Huang Y, Tu C, et al. Household transmission of SARS-CoV-2, Zhuhai, China, 2020. *Clin Infect Dis* **2020**; 71(16):2099–108.
- Cao WC, Liu W, Zhang PH, Zhang F, Richardus JH. Disappearance of antibodies to SARS-associated coronavirus after recovery. *N Engl J Med* **2007**; 357:1162–3.
- Dong Y, Mo X, Hu Y, et al. Epidemiology of COVID-19 among children in China. *Pediatrics* **2020**; 145:e20200702.
- Lu J, Yang Z. COVID-19 outbreak associated with air conditioning in restaurant, Guangzhou, China, 2020. *Emerg Infect Dis* **2020**; 26:2791–3.
- World Health Organization. Transmission of SARS-CoV-2: implications for infection prevention precautions. Scientific brief. 9 July 2020. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/modes-of-transmission-of-virus-causing-covid-19-implications-for-ipc-precaution-recommendations>. Accessed 28 July 2020.
- Wang Y, Tian H, Zhang L, et al. Reduction of secondary transmission of SARS-CoV-2 in households by face mask use, disinfection and social distancing: a cohort study in Beijing, China. *BMJ Global Health* **2020**; 5:e002794.
- Lauer SA, Grantz KH, Bi Q, et al. The incubation period of coronavirus disease 2019 (COVID-19) from publicly reported confirmed cases: estimation and application. *Ann Intern Med* **2020**; 172:577–82.
- Backer JA, Klinkenberg D, Wallinga J. Incubation period of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infections among travellers from Wuhan, China, 20–28 January 2020. *Euro Surveill* **2020**; 25:2000062.
- Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med* **2020**; 382:1708–20.
- Park YJ, Choe YJ, Park O, et al. Contact tracing during coronavirus disease outbreak, South Korea, 2020. *Emerg Infect Dis* **2020**. doi:10.3201/eid2610.201315.
- Zhu Y, Bloxham CJ, Hulme KD, et al. Children are unlikely to have been the primary source of household SARS-CoV-2 infections. medRxiv [Preprint]. **2020**. doi:10.1101/2020.03.26.20044826.

4.2 SEGUNDO ARTÍCULO

4.2.1 Resumen del segundo artículo

Poca importancia de los niños como transmisores del SARS-CoV-2 en los núcleos familiares: estudio observacional en domicilios familiares en el Área Metropolitana de Barcelona, España

Metodología:

Estudio prospectivo, longitudinal y observacional que incluyó a niños de entre 3 a 15 años con infección aguda confirmada por SARS-CoV-2 (PCR SARS-CoV-2 positiva en nasofaringe o saliva e IgG negativa) que acudían a campus de verano. El período de reclutamiento duró 5 semanas, del 29 de junio al 31 de julio de 2020. Los niños incluidos procedían de tres vías de reclutamiento diferentes:

- 1) Cohorte campus de verano: vigilancia activa en 22 campus de verano, donde se realizó una PCR semanal en nasofaringe o saliva a los 1.905 niños que asistieron.
- 2) Detección pasiva de casos procedentes de otros campus de verano no incluidos en la cohorte previa, remitidos desde el sistema de vigilancia epidemiológica.
- 3) Casos individuales de niños que asistían a campus de verano con PCR positiva en los 5 días anteriores que contactaban a través una plataforma habilitada vía internet.

Se excluyeron los participantes con infecciones pasadas (definidas por la presencia inicial de IgG positiva para SARS-CoV-2), aquellos en los que no se podía garantizar un seguimiento adecuado y aquellos que no dieron su consentimiento.

Se estudió también a todos los convivientes (padres y hermanos) de los niños con infección aguda confirmada por SARS-CoV-2, independientemente de su edad, para detectar si los niños infectados eran casos primarios o secundarios dentro del núcleo familiar.

Se realizó un seguimiento longitudinal (5 semanas) de los núcleos familiares para identificar si los niños considerados casos primarios transmitían el virus a otros miembros de la familia.

Se realizaron PCR y serologías a los pacientes positivos y a sus contactos durante el seguimiento.

En cada domicilio, se calculó el número de reproducción efectivo en el domicilio (Re^*) en los niños (número total de casos secundarios / número total de casos primarios pediátricos) y en los adultos (número total de casos secundarios / número total de casos primarios adultos).

También se calculó la tasa de ataque secundario (SAR) que se definió como la relación: (número de infecciones secundarias) / (número de contactos evaluados) x100.

Se comparó Re^* y SAR derivados de los casos primarios pediátricos con el de los casos primarios adultos.

Resultados:

Los resultados de este segundo estudio fueron:

1. Casos índice e identificación de núcleos familiares

Se realizó un cribado para SARS-CoV-2 a 1.905 niños que acudían a campus de verano, y 22 resultaron positivos (1,15%). Además 32 niños adicionales accedieron al estudio (12 procedentes de vigilancia epidemiológica y 20 de manera voluntaria a través de la plataforma web habilitada).

De estos 54 casos índice, 37 accedieron a participar, y formaban parte de 26 núcleos familiares diferentes. Se identificaron 99 contactos, de los cuales 78 (86,7%) estuvieron de acuerdo en ser estudiados (22/23 niños (95,6%) y 56/67 adultos (83,6%)). En 20 núcleos familiares se estudió al 100,0% de los convivientes.

La mediana de edad de los casos índice fue de 9 años (rango intercuartílico [RIC] 5-11), y el 54,0% eran varones (20/37). El 64,9% presentó síntomas (24/37), y ninguno requirió hospitalización.

El número medio de miembros del domicilio era 4 (RIC 4-6): 2 niños (RIC 2-3) y 2 adultos (RIC 2-3).

2. Casos primarios pediátricos

En 13 de las 26 familias estudiadas (50%), el caso primario fue un niño y se observó transmisión secundaria a otros convivientes en 3/13 (23%). En un caso, todos los

convivientes (2 adultos y 2 niños) fueron presuntamente infectados después del caso pediátrico primario. En otro caso, el niño solo infectó a uno de los dos progenitores. Finalmente, el último niño infectó a su hermana, pero a ninguno de los adultos.

En 4/13 de los casos primarios pediátricos (30,0%), la PCR nasofaríngea fue persistentemente positiva más de una semana después del diagnóstico, y 3/4 de estos niños infectaron a otro miembro de su familia ($p < 0,01$). No se encontraron otras diferencias estadísticamente significativas entre los casos primarios pediátricos con transmisión secundaria demostrada y los que no transmitieron la infección.

Se calculó un Re^* de 0,46 y una SAR del 14,2% en los casos primarios pediátricos.

3. Casos primarios adultos

En 10 de las 26 familias (38,4%) el caso primario fue un adulto, que infectó a otros 16 miembros de la familia además de los casos índice. La SAR de los casos primarios adultos fue del 72,2%, incluyendo a los niños que dieron lugar al estudio de contactos, y del 61,5% si se excluían a estos, y el Re^* estimado fue de 2,6.

Por último, hubo 3 núcleos familiares en los que no se pudo determinar el caso primario.

Conclusiones:

Los niños no son los principales transmisores de la infección por SARS-CoV-2 dentro de los núcleos familiares. Una PCR positiva persistente una semana después del diagnóstico podría estar asociada con una mayor transmisibilidad.

4.2.2 Documento del segundo artículo

Low transmission of SARS-CoV-2 derived from children in family clusters: An observational study of family households in the Barcelona Metropolitan Area, Spain

Mele-Casas M, Launes C, de Sevilla MF, Hernandez-Garcia M, Pons-Tomas G, Bassat Q, Fumado V, Fortuny C, Garcia-Miquel A, Bonet-Carne E, Prats C, Ajanovic S, Cubells M, Claverol J, Penela-Sanchez D, Jou C, Arias S, Balanza N, Baro B, Millat-Martinez P, Alonso S, Alvarez-Lacalle E, Catala M, Cuadras D, Muñoz-Almagro C, Gratacos E, Jordan I, Garcia-Garcia JJ

Artículo publicado en:

PLOS ONE. 2022

JCR 2022: Q1 Multidisciplinary Sciences

Factor de impacto 2022: 3.752

RESEARCH ARTICLE

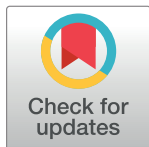
Low transmission of SARS-CoV-2 derived from children in family clusters: An observational study of family households in the Barcelona Metropolitan Area, Spain

Maria Mele-Casas¹, Cristian Launes^{1,2,3}, Mariona F. de Sevilla^{1,2,3*}, Maria Hernandez-Garcia¹, Gemma Pons-Tomas¹, Quique Bassat^{1,3,4,5,6}, Victoria Fumado^{2,7}, Claudia Fortuny^{2,3,7}, Aleix Garcia-Miquel⁸, Elisenda Bonet-Carne^{8,9,10}, Clara Prats¹¹, Sara Ajanovic⁴, Marta Cubells^{2,12}, Joana Claverol^{2,12}, Daniel Penela-Sanchez¹³, Cristina Jou^{2,14,15}, Sara Arias⁴, Nuria Balanza⁴, Barbara Baro⁴, Pere Millat-Martinez⁴, Sergio Alonso¹¹, Enric Alvarez-Lacalle¹¹, Marti Catala¹⁶, Daniel Cuadras¹⁷, Carmen Muñoz-Almagro^{2,3,18}, Eduard Gratacos^{8,9,15}, Iolanda Jordan^{2,3,13‡}, Juan Jose Garcia-Garcia^{1,2,3‡}

1 Pediatric Department, Hospital Sant Joan de Déu, University of Barcelona, Barcelona, Spain, **2** Institut de Recerca Sant Joan de Déu, University of Barcelona, Barcelona, Spain, **3** Consorcio de Investigación Biomédica en Red de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Madrid, Spain, **4** ISGlobal, Hospital Clínic—Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain, **5** Centro de Investigação em Saúde de Manhiça (CISM), Maputo, Mozambique, **6** ICREA, Pg. Lluís Companys 23, Barcelona, Spain, **7** Infectious Diseases Department, Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona, Spain, **8** BCNatal | Fetal Medicine Research Center (Hospital Clínic and Hospital Sant Joan de Déu), University of Barcelona, Barcelona, Spain, **9** Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona, Spain, **10** Universitat Politècnica de Catalunya, BarcelonaTech, Barcelona, Spain, **11** Department of Physics, Computational Biology and Complex Systems (BIOCOM-SC), Universitat Politècnica de Catalunya, Castelldefels, Spain, **12** Fundació Sant Joan de Déu, Barcelona, Spain, **13** Pediatric Intensive Care Unit, Hospital Sant Joan de Déu, University of Barcelona, Barcelona, Spain, **14** Department of Pathology and Biobank, Hospital Sant Joan de Déu, Barcelona, Spain, **15** CIBERER, Instituto de Salud Carlos III, Barcelona, Spain, **16** Centre for Comparative Medicine and Bioimage (CMCiB), Germans Trias i Pujol Research Institute (IGTP), Badalona, Spain, **17** Statistics Department, Fundació Sant Joan de Déu, Barcelona, Spain, **18** Department of Medicine, Universitat Internacional de Catalunya, Barcelona, Spain

‡ IJ and JJGG are contributed equally and should share senior authorship.

* mariafernandez@sjdhospitalbarcelona.org



OPEN ACCESS

Citation: Mele-Casas M, Launes C, de Sevilla MF, Hernandez-Garcia M, Pons-Tomas G, Bassat Q, et al. (2022) Low transmission of SARS-CoV-2 derived from children in family clusters: An observational study of family households in the Barcelona Metropolitan Area, Spain. *PLoS ONE* 17(11): e0277754. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277754>

Editor: Rizaldy Taslim Pinzon, Duta Wacana Christian University School of Medicine / Bethesda Hospital, INDONESIA

Received: November 14, 2021

Accepted: November 2, 2022

Published: November 17, 2022

Copyright: © 2022 Mele-Casas et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: Data contain potentially identifying and sensitive patient information and the FSJD Research Ethics Committee and the European General Data Protection Regulation impose some restrictions to share these data publicly. All data could be shared through a secure research data repository (Kids Corona HDM). Interested scientists may obtain access to Kids Corona HDM for the purposes of

Abstract

Background

Family clusters offer a good opportunity to study viral transmission in a stable setting. We aimed to analyze the specific role of children in transmission of SARS-CoV-2 within households.

Methods

A prospective, longitudinal, observational study, including children with documented acute SARS-CoV-2 infection attending 22 summer-schools in Barcelona, Spain, was performed. Moreover, other patients and families coming from other school-like environments that voluntarily accessed the study were also studied. A longitudinal follow-up (5 weeks) of the family clusters was conducted to determine whether the children considered to be primary

scientific investigation, teaching, or planning clinical research studies after accepting the Kids Corona HDM Data Use Agreement and its publications' policies (<https://kidscorona.irsjd.org/conditions-of-use-hdm/>). Access can be requested at: <https://kidscorona.irsjd.org/open-data-bank/>.

Funding: The research leading to these results received funding from Banco de Santander (<https://www.bancosantander.es/particulares>) and Stavros Niarkos Foundation, through Kids Corona platform. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing interests: The authors have declared that no competing interests exist.

cases were able to transmit the virus to other family members. The household reproduction number (Re^*) and the secondary attack rate (SAR) were calculated.

Results

1905 children from the summer schools were screened for SARS-CoV-2 infection and 22 (1.15%) tested positive. Moreover, 32 additional children accessed the study voluntarily. Of these, 37 children and their 26 households were studied completely. In half of the cases (13/26), the primary case was considered to be a child and secondary transmission to other members of the household was observed in 3/13, with a SAR of 14.2% and a Re^* of 0.46. Conversely, the SAR of adult primary cases was 72.2% including the kids that gave rise to the contact tracing study, and 61.5% without them, and the estimated Re^* was 2.6. In 4/13 of the paediatric primary cases (30.0%), nasopharyngeal PCR was persistently positive > 1 week after diagnosis, and 3/4 of these children infected another family member ($p < 0.01$).

Conclusions

Children may not be the main drivers of the infection in household transmission clusters in the study population. A prolonged positive PCR could be associated with higher transmissibility.

Background

As of October 2022, SARS-CoV-2 has infected >600 million people resulting in >6.5 million deaths according to the World Health Organization (WHO).

At the beginning of the pandemic, in a scenario of uncontrolled transmission, stringent lockdown measures were adopted globally. Such measures were particularly strict for children, including the early closure of schools, with rigorous confinement and the recommendation to avoid contact with the elderly [1, 2]. The adoption of such measures was based on the existing knowledge about children as the main drivers of other respiratory viral infections, such as influenza virus [3]. According to this assumption, children could act as the main spreaders of SARS-CoV-2, and until proven to the contrary, they needed to be targeted as a high priority for confinement [4].

Nonetheless, current understanding of SARS-CoV-2 transmission suggests that the contribution of children to the overall community transmission may be minor [5–7]. An epidemiological study at the beginning of the pandemic in Spain showed that children and adolescents had lower seroprevalence than adults (3.4% vs 6.0% in adults older than 65) [8]. However, recent epidemiological data from the CDC show that the number and rate of cases in children in the United States have been steadily increasing since March 2020, from 46 incident cases/100,000 population to 169 incident cases/100,000 population in November 2021 [9]. Therefore, transmissibility and the role of children in SARS-CoV-2 infection spreading in the community still remain controversial [10].

For this reason, this study has focused on children, a population less studied and highly affected during the pandemic, aiming to identify differences in their transmission potential in relation to adults. Thus, the primary aim of this study was to determine the role of children in the transmission of SARS-CoV-2 in households. Household transmission clusters allow the evaluation of viral transmission and susceptibility to infection [8, 11], as the household is a stable setting, with close contact between cohabitants and without restrictive measures.

Methods

Study description

This was a prospective, longitudinal, observational study, including children attending 22 summer schools in the Barcelona Metropolitan Area, Spain. Children from other similar school-like environments (see inclusion and exclusion criteria) were included in the study voluntarily. The recruitment period ran from 29th June to 31st July 2020. Parents and siblings from children with confirmed SARS-CoV-2 infection were screened and evaluated as close contacts and followed up for 5 weeks. Four steps in the study of each household were followed: 1) identification of infected children from the study setting (index case), 2) study of the household-based family contacts of these positive children, 3) clinical and epidemiological data collection through a structured questionnaire, and finally 4) longitudinal follow up of those family contacts to determine whether the children who were primary cases were able to transmit the virus to other family members.

Inclusion and exclusion criteria

Inclusion criteria. Children aged 3 to 15 with detection of SARS-CoV-2 RNA in nasopharyngeal swab or saliva specimens using a real-time PCR (RT-PCR) (index cases) and their household contacts, regardless of age. These children came via three different recruitment pathways (RP): RP1/ Active surveillance cohort study in 22 summer schools, consisting of a longitudinal follow-up of a large number of children with weekly screening for SARS-CoV-2 infection (RT-PCR in nasopharynx or saliva) [12], RP2/ Cases identified by the Catalonian Health Surveillance System of SARS-CoV-2 infection diagnosed by nasopharyngeal RT-PCR while attending other summer schools or children's foster homes in the area of Barcelona. These included children that were tested for SARS-CoV-2 PCR based on symptoms or because of a positive contact case; and RP3/ Individual cases referred from a public call made to enroll children with positive RT-PCR in the preceding 5 days. The 22 summer schools enrolled in the study (RP1) were located in 27 different locations within Catalonia, and were considered to be a representative sample of the region under study. RP2 and RP3 were included at the beginning of the study design due to the uncertainty in the evolution of the pandemic at that moment. If there had been a very low incidence, there would have been cases from that call based on passive surveillance.

Exclusion criteria. Children with infection at an earlier or previous unknown time, defined by the presence of positive Anti-SARS-CoV-2 IgG. Households with incomplete follow up or from whom informed consent was not obtained.

Definitions

Primary household cases. Children were considered primary cases independently of having or not having clinical symptoms if SARS-CoV-2 RT-PCR was detected in them in the absence of Anti-SARS-CoV-2 IgG. Their household contacts needed to fulfill the following criteria at the time of the child diagnosis: absence of clinical symptoms, negativity for SARS-CoV-2 in RT-PCR testing and for Anti-SARS-CoV-2 IgG and IgM.

Adults were considered primary cases if they were positive for SARS-CoV-2 and had the onset of symptoms before the index case (defined as more than two days), or if they had positive Anti-SARS-CoV-2 IgG at the time of inclusion in the study, and the index case was negative for Anti-SARS-CoV-2 IgG detection.

An indeterminate primary case was considered whenever the index case and their contacts were asymptomatic and when SARS-CoV-2 was detected at the time of inclusion to the study in more than one member of the family.

Secondary household cases. A new secondary incident infection was defined by one of the following conditions: 1) Negative RT-PCR and Anti-SARS-CoV-2 IgG tests at enrolment followed by a positive test at 7 or 14 days, 2) Evidence of seroconversion at week 5 in the presence of a negative Anti-SARS-CoV-2 IgG and with a negative baseline RT-PCR.

Outcomes

The primary outcome of the study was the rate of transmission derived from pediatric primary cases to other children and adults, in the household setting (household reproduction number, Re^* [13]). We calculated the Re^*_{children} (total number of secondary cases inside household/total number of pediatric primary cases) and the Re^*_{adults} (total number of secondary cases inside household/total number of adult primary cases).

We also calculated the secondary attack rate (SAR) that was defined as the ratio:

- SAR in children primary cases: (number of secondary infections)/(number of contacts evaluated) x100.
- SAR in adult primary cases: (number of secondary infections)/(number of contacts evaluated) x100.
- SAR in adult primary cases without including the index cases: (number of secondary infections—index cases)/(number of contacts evaluated) x100.

Samples and laboratory measurements

Laboratory tests performed on participants are shown in Table 1.

Nasopharyngeal swabs or nasopharyngeal aspirates were collected by testing teams, each composed of 2 research nurses. The swab was inserted along the nasal septum to the nasopharynx, until resistance was felt. It reached a depth equal to the distance from the nostrils to the earlobe. It was left in place for several seconds and then it was removed while rotating. For the nasopharyngeal aspirate, a disposable catheter connected to a vacuum source was inserted into one nostril until reaching the nasopharynx. The distance from the earlobe to the tip of the patient's nose was the length to which the catheter was inserted. Secretions were recovered into a sterile container applying suction while the catheter was drawn back. The procedure was repeated with the same catheter and container in the other nostril. Samples were transported in viral inactivation transport medium. SARS-CoV-2 RNA detection was performed in these samples using different commercial *in vitro* diagnostic tests (TaqPath COVID-19 CE-IVD RT-PCR Kit, ThermoFisher; Genefinder™ Plus RealAmp Kit, Genefinder laboratories and

Table 1. Sequence of laboratory specimen collection, tests, and follow-up visits after the diagnosis of the index case.

	Week 1	Week 2	Week 3 (14 th day)	Week 4	Week 5
Index case	Nasopharyngeal PCR Quick serology Serum serology	Nasopharyngeal PCR	Nasopharyngeal PCR		Nasopharyngeal PCR (only if 14 th day nasopharyngeal PCR was positive) Serum serology
Household child contacts	Nasopharyngeal PCR Quick serology	Nasopharyngeal PCR	Nasopharyngeal PCR	Nasopharyngeal PCR (only if 14 th day nasopharyngeal PCR was positive)	Nasopharyngeal PCR (only if previous nasopharyngeal PCR was positive) Quick serology
Household adult contacts	Nasopharyngeal PCR Quick serology Serum serology	Nasopharyngeal PCR	Nasopharyngeal PCR	Nasopharyngeal PCR (only if 14 th day nasopharyngeal PCR was positive)	Nasopharyngeal PCR Quick serology Serum serology

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277754.t001>

Allplex™ 2019-nCoV Assay—multiplex Real-time PCR assay, Seegene Laboratories) and were processed in the Orfeo Program according to CDC-006-00019 CDC/DDID/NCIRD/ Division of Viral Diseases protocol, available at <https://www.fda.gov/media/134922/download>.

Rapid IgG/IgM COVID-19 tests (Sure Screen) were performed according to manufacturer's instructions in finger-prick capillary blood specimens. Serum samples were tested with an enzyme linked immunoassay (ELISA) (Euroimmune). Both quick and serum serology were performed by nursing staff.

Statistical analysis

Chi-square test was used for comparisons of categorical data, and Student's t-test or Mann-Whitney U for quantitative variables, according to their normal distribution or not. The Wilcoxon signed range test was used to compare paired numerical data. SPSS® 22.0 statistical package (IBM Corp. software, Armonk, NY) was used.

Ethics

The study was approved by the Institutional Review Board and the Sant Joan de Déu Hospital Ethics Committee (PIC-140-20). All participants or their legal guardians provided written informed consent.

Results

From the summer school cohort (RP1), 1905 children were studied, and SARS-CoV-2 was detected by RT-PCR in 22 (1.1%). Thirty-two other children were also diagnosed with SARS-CoV-2 infection (RP2 12, and RP3 20). Of those 54 index cases, 37 (68.5%) agreed to be studied, corresponding to 26 different households (Fig 1). Ninety household contacts were identified, of whom 78 (86.7%) agreed to be studied (22/23, 95.6% of children and 56/67, 83.6% of adults). In 20 households, 100.0% of the cohabitants were studied.

The median age of the index cases was 9 years old (IQR 5–11), and 54.0% were males (20/37). 64.9% presented symptoms (24/37), and none of them required hospitalization. The median number of household members was 4 (IQR 4–6): 2 children (IQR 2–3) and 2 adults (IQR 2–3).

In 13 of the 26 studied households (50.0%), the primary case was a child, and transmission to other members was observed in 3/13 households (23.0%) (Fig 2). In one case, all the cohabitants (2 adults and 2 children) were presumably infected after the primary pediatric case. In another case, the child only infected one of the two parents. Finally, the last child infected his sister, but none of the adults.

Of note, in 9/13 of the pediatric primary cases (69.0%) nasopharyngeal PCR became negative only one week after the diagnosis. In those who had persistent SARS-CoV-2 RNA detection one week after diagnosis, the rate of children who infected another household contact was significantly higher (3/4 vs 0/9, $p < 0.01$). No other statistically significant differences were found between pediatric primary cases with demonstrated secondary transmission and those where transmission was not documented (Table 2).

In 10 of the 26 studied households (38.4%), the primary case was an adult who infected 16 other household members in addition to the index case. In 3 families the primary case could not be determined.

According to the results, the secondary attack rate of pediatric primary cases was 14.2%. In addition, the effective reproduction number when the primary case was the child was $Re^*_{\text{children}} = 0.46$ (of 13 child primary cases, there were only 6 secondary cases).

Family cluster	Primary case (age in years)	Children in the household	Children studied	Children secondarily infected	SAR among susceptible children	Adults in the household	Adults studied	Adults infected	SAR among susceptible adults
1	Child (10)	3	3 (100,0%)	2	100,0%	2	2 (100,0%)	2	100,0%
2	Child (2)	2	2 (100,0%)	0	0,0%	2	2 (100,0%)	0	0,0%
3	Child (9)	2	2 (100,0%)	0	0,0%	2	2 (100,0%)	1	50,0%
4	Child (12)	3	3 (100,0%)	0	0,0%	4	2 (50,0%)	0	0,0%
5	Child (3)	2	2 (100,0%)	0	0,0%	1	1 (100,0%)	0	0,0%
6	Child (5)	1	1 (100,0%)	0	0,0%	2	2 (100,0%)	0	0,0%
7	Child (9)	2	2 (100,0%)	1	100,0%	2	2 (100,0%)	0	0,0%
8	Child (5)	4	4 (100,0%)	0	0,0%	3	2 (66,7%)	0	0,0%
9	Child (5)	1	1 (100,0%)	0	0,0%	2	2 (100,0%)	0	0,0%
10	Child (6)	2	2 (100,0%)	0	0,0%	2	2 (100,0%)	0	0,0%
11	Child (10)	2	2 (100,0%)	0	0,0%	2	2 (100,0%)	0	0,0%
12	Child (15)	1	1 (100,0%)	0	0,0%	3	3 (100,0%)	0	0,0%
13	Child (10)	3	3 (100,0%)	0	0,0%	3	3 (100,0%)	0	0,0%
14	Adult	1	1 (100,0%)	1	100,0%	2	2 (100,0%)	0	0,0%
15	Adult	3	3 (100,0%)	3	100,0%	4	1 (25,0%)	0	0,0%
16	Adult	3	3 (100,0%)	3	100,0%	4	4 (100,0%)	3	100,0%
17	Adult	2	2 (100,0%)	2	100,0%	4	4 (100,0%)	3	100,0%
18	Adult	3	2 (66,7%)	1	50,0%	4	2 (50,0%)	0	0,0%
19	Adult	2	2 (100,0%)	2	100,0%	2	2 (100,0%)	1	100,0%
20	Adult	3	3 (100,0%)	1	33,3%	2	2 (100,0%)	1	100,0%
21	Adult	2	2 (100,0%)	2	100,0%	2	2 (100,0%)	0	0,0%
22	Adult	2	2 (100,0%)	1	50,0%	2	2 (100,0%)	1	100,0%
23	Adult	3	3 (100,0%)	1	33,3%	2	2 (100,0%)	0	0,0%
24	Indeterminate	2	2 (100,0%)	2	100,0%	2	2 (100,0%)	2	100,0%
25	Indeterminate	2	2 (100,0%)	1	50,0%	4	3 (75,0%)	2	66,7%
26	Indeterminate	4	4 (100,0%)	4	100,0%	3	1 (33,3%)	1	100,0%

Fig 1. Number of inhabitants and SAR in each household according to the age-range of the primary case.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277754.g001>

The secondary attack rate of adult primary cases was 61.5% (72.2% including the index cases). The effective reproduction number was $Re^*_{adults} = 2.6$ in those households where the primary case was an adult.

The different recruitment pathways, children included and excluded, and results after the contact tracing in the different family clusters are illustrated in Fig 3.

Discussion

There is still much uncertainty about the potential of children to act as effective transmitters of SARS-CoV-2 infections, with several studies showing lower transmission rates in comparison to adults and recent studies showing similar transmission rates [14–16].

The present study shows that the secondary attack rate (SAR) is much lower in children than in adults.

Within household clusters, it has been shown that children are at a higher risk of infection in comparison to other settings, but they are unlikely to be the primary drivers of the infection in the cluster [14, 15]. A recent meta-analysis found that in only 3.8% of the cases was a child determined to be the index case of the household cluster [17]. Indeed, this is consistent with our observation that while in 13 of the household clusters studied the primary case was a child, only 3 (23.0%) of them were shown to have fostered transmission to other members of the household.

In the same line, the secondary attack rate of child primary cases in this study was 14,2%. This value is in the lower range of the typical SAR in households, which has been estimated at 17,1% by a meta-analysis of 54 studies [18]. Furthermore, the effective reproduction number



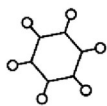

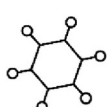

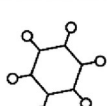

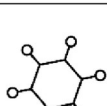




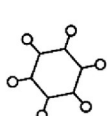


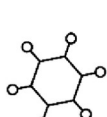


Household with secondary transmission from children (ID)	Primary cases (age in years)	Contacts (age in years)	Infected
1		 2	
		 8	
		 37	
		 46	
2		 7	NOT INFECTED
		 42	NOT INFECTED
		 48	
3		 6	
		 35	NOT INFECTED
		 35	NOT INFECTED

Fig 2. Description of the family clusters in which children infected other members of the household.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277754.g002>

Table 2. Comparison of demographic, clinical, and analytical variables of paediatric patients who transmitted the infection to other household members and those who did not transmit it.

	Total (n = 13)	Paediatric primary household case with demonstrated secondary transmission (n = 3)	Paediatric primary household case with no demonstrated secondary transmission (n = 10)	p
Age (years) Median (IQR)	9 (IQR 5–11)	9 (IQR 9–9.5)	5.5 (IQR 4.5–10.5)	0.49
Sex (males) (n)	5	1	4	0.68
Symptoms (n)	11	3	8	0.57
• Fever	8	2	6	0.68
• Cough	2	1	1	0.42
• Sore throat	4	1	3	0.71
• Gastrointestinal	4	2	2	0.20
• Headache	2	0	2	0.57
• Exanthema	2	0	2	0.57
Handwashing				
• 3–5 times/day	9	2	7	0.70
• >5 times/day	4	1	3	0.70
Family members median number (n)	4 (IQR 3.5–5.5)	4 (IQR 4–4.5)	4 (IQR 3–6.5)	0.81
Household surface (m ²)	82 (IQR 61–120)	130 (IQR 60–130)	80 (IQR 62–115)	0.27
m ² /cohabitants	18.7 (IQR 15–31)	32 (IQR 23–32)	17 (IQR 15–27)	0.35
Room sharing (n)	6	1	5	1
Number of toilets (n)	1.5 (IQR 1–2)	2 (IQR 1.5–2.5)	1 (IQR 1–2)	0.42
Persistent positive nasopharyngeal PCR a week after diagnosis (n)	4	3	1	<0.01

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277754.t002>

in the household when the primary case was the child was 0.46. This value is lower than the Re^* measured in a household transmission study in the United States, which was around 0.9 [9]. More recently, other studies in the United States have shown similar rates of secondary infection among children and adults [16]. In our opinion, considering that all these studies were also conducted during the pre-variants period, the disparity in the results could be explained by differing setting variables, such as lifestyles and the main features of the houses (household surface, number of cohabitants per m², number of toilets and rooms. . .), rate of household overcrowding, and also different COVID-19 restriction policies at the time of the study. Despite this, we did not find any difference in the main features of the houses and the number of individuals per home surface between families in which another member became secondarily infected and those in which there was no secondary infection. Recently, the emergence of the omicron variant has led to higher SARs both in children and adults. However, there is still no evidence that omicron preferably targets children more than other age groups [19]. However, vaccination rates were higher in older people since children got access to the vaccines much later, and this makes it very difficult to draw conclusions with regard to the role of children in the transmissibility of this variant.

A recent study noted that the secondary attack rate was lower in households with pediatric primary cases than those with adult primary cases (59% vs. 67.6%) [20]. In our study, the SAR of adult primary cases (72.2% including the kids that gave rise to the contact tracing study, and 61.5% without them) is completely biased since, by necessity, one pediatric case had already been detected. Therefore, an adult or someone else must have at least infected a child.

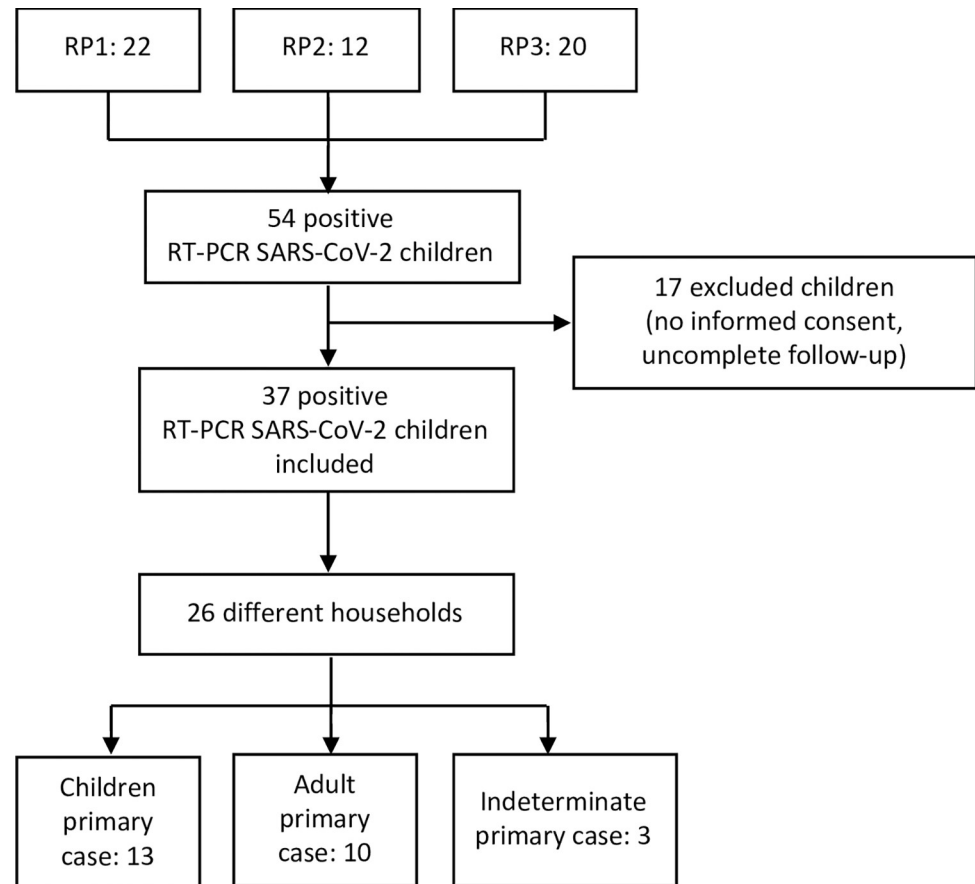


Fig 3. Flowchart including the different recruitment pathways, children included and excluded, and results after the contact tracing in the different family clusters.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0277754.g003>

The fact that in the study population there were not households with zero infected kids may have led to an overestimation of the infectivity of adults as primary cases, resulting in a bias in estimating the secondary attack rates and having an impact on the main findings.

Children are susceptible to SARS-CoV-2 infection but they are more frequently asymptomatic or have mild symptoms compared to adults [21, 22]; this may partly explain why children are less likely to transmit the infection [17]. In our study, only 2 out of 13 primary cases in the household clusters were asymptomatic, but neither of these transmitted the infection to other household members.

Knowing the infectivity of people affected by the virus is especially important for the control of the pandemic, and one of the ways to investigate it relies on analyzing the viral load in the respiratory tract by RT-PCR. Lower risk of transmission may be due to lower viral loads but it is not certain that children have comparatively lower viral load levels than adults [23–25]. Related to this, we were not able to carry out the study of viral loads (due to the use of different commercial tests) but we did record when the negativization of the PCR of the study subjects took place. In 9 out of 13 primary cases, the PCR was negative one week after the diagnosis. Of the 4 remaining cases with a PCR persistently positive more than one week after the diagnosis, 3 of them infected a family member. Therefore, according to our findings, patients with prolonged positivity by PCR were associated with a higher secondary attack rate. According to some studies in adults, there seems to be a relationship between the severity of the

disease and the longer detection of positive PCR [26]. Nevertheless, in the studies carried out so far, it could not be demonstrated that a persistently positive PCR was associated with increased infectivity [27]. To the best of our knowledge, there are no published studies discussing the relationship between persistence of a positive PCR and increased infectivity in children. This observation could be of interest in the future because the use of antivirals has been associated with faster viral clearance in adults [28]. Studies with new oral antivirals are needed to establish whether the use of these therapies is safe and effective for this purpose.

The present study has several limitations, such as the limited number of family clusters studied and the low number of cases of children considered to have been primary cases in the household. The fact that the main inclusion criteria was being a child with confirmed SARS-CoV-2 infection may have led to overestimation of the number of cases in which children were determined to be primary cases (13 out of 26), yet it might also have led to overestimation of the infectivity of the adults as primary cases (10 out of 26 primary cases were adults, and all of them transmitted the infection at least to one child). When in the same family unit there was more than one person infected, we were unable to rule out the transmission being from the primary case and not from one of the secondary cases. We were also unable to determine whether the infection of the household contacts was due to direct transmission inside the family unit, because we could not dismiss the community exposure as a putative source of infection. The children included in the study had a wide range of ages (3–15 years old) across different stages of education (kindergarten, primary school, and middle school), and were at different developmental stages having different behaviors and contact types, which might further differing risks of infections. However, we aimed to compare viral transmissibility between children and adults at the household level, as this is a stable setting, and the children index cases had homogeneous ages (70% between 5 and 10 years old). Moreover, the study took place at a time when masks were required outside the household and there were social restrictions. Another limitation was that we were unable to define the unique primary case when two members of the same cluster started symptoms within 1–2 days of each other (these cases have in fact been reported as indeterminate primary cases). Finally, we decided to use quick serologies in household child contacts to avoid venopuncture; the lower sensitivity of this method may have missed some infections. This potential misclassification of the outcomes may have affected the relative roles of children and adults in driving household transmission.

Conclusions

Household clusters play an important role in the transmission of SARS-CoV-2. The present study confirms that the secondary attack rate (SAR) was much lower in children than in adults, and shows that the persistence of positive RT-PCR after one week appears to be associated with a higher rate of transmission at home. In our setting, children were not the main drivers of infection at the household level.

Acknowledgments

Hospital Sant Joan de Déu and Biobank.

Author Contributions

Conceptualization: Maria Mele-Casas, Cristian Launes, Mariona F. de Sevilla, Maria Hernandez-Garcia, Gemma Pons-Tomas, Quique Bassat, Victoria Fumado, Claudia Fortuny, Aleix Garcia-Miquel, Elisenda Bonet-Carne, Sara Ajanovic, Joana Claverol, Sara Arias, Nuria Balanza, Barbara Baro, Pere Millat-Martinez, Daniel Cuadras, Carmen Muñoz-Almagro, Eduard Gratacos, Iolanda Jordan, Juan Jose Garcia-Garcia.

Data curation: Maria Mele-Casas, Cristian Launes, Mariona F. de Sevilla, Maria Hernandez-Garcia, Gemma Pons-Tomas, Quique Bassat, Victoria Fumado, Claudia Fortuny, Elisenda Bonet-Carne, Clara Prats, Sara Ajanovic, Marta Cubells, Joana Claverol, Daniel Penela-Sanchez, Cristina Jou, Sara Arias, Nuria Balanza, Barbara Baro, Pere Millat-Martinez, Sergio Alonso, Enric Alvarez-Lacalle, Marti Catala, Daniel Cuadras, Carmen Muñoz-Almagro, Iolanda Jordan.

Formal analysis: Maria Mele-Casas, Cristian Launes, Mariona F. de Sevilla, Maria Hernandez-Garcia, Gemma Pons-Tomas, Quique Bassat, Victoria Fumado, Claudia Fortuny, Daniel Cuadras, Iolanda Jordan, Juan Jose Garcia-Garcia.

Funding acquisition: Aleix Garcia-Miquel, Elisenda Bonet-Carne, Joana Claverol, Carmen Muñoz-Almagro, Eduard Gratacos, Iolanda Jordan, Juan Jose Garcia-Garcia.

Investigation: Maria Mele-Casas, Cristian Launes, Mariona F. de Sevilla, Maria Hernandez-Garcia, Gemma Pons-Tomas, Quique Bassat, Victoria Fumado, Claudia Fortuny, Aleix Garcia-Miquel, Elisenda Bonet-Carne, Cristina Jou, Daniel Cuadras, Carmen Muñoz-Almagro, Eduard Gratacos, Iolanda Jordan, Juan Jose Garcia-Garcia.

Methodology: Maria Mele-Casas, Cristian Launes, Mariona F. de Sevilla, Maria Hernandez-Garcia, Gemma Pons-Tomas, Quique Bassat, Victoria Fumado, Claudia Fortuny, Clara Prats, Joana Claverol, Cristina Jou, Sergio Alonso, Enric Alvarez-Lacalle, Marti Catala, Daniel Cuadras, Carmen Muñoz-Almagro, Eduard Gratacos, Iolanda Jordan, Juan Jose Garcia-Garcia.

Project administration: Maria Mele-Casas, Cristian Launes, Mariona F. de Sevilla, Maria Hernandez-Garcia, Gemma Pons-Tomas, Quique Bassat, Victoria Fumado, Claudia Fortuny, Aleix Garcia-Miquel, Elisenda Bonet-Carne, Marta Cubells, Joana Claverol, Carmen Muñoz-Almagro, Eduard Gratacos, Iolanda Jordan, Juan Jose Garcia-Garcia.

Resources: Maria Mele-Casas, Cristian Launes, Mariona F. de Sevilla, Maria Hernandez-Garcia, Gemma Pons-Tomas, Quique Bassat, Victoria Fumado, Claudia Fortuny, Aleix Garcia-Miquel, Elisenda Bonet-Carne, Marta Cubells, Joana Claverol, Cristina Jou, Carmen Muñoz-Almagro, Eduard Gratacos, Iolanda Jordan, Juan Jose Garcia-Garcia.

Software: Aleix Garcia-Miquel, Elisenda Bonet-Carne, Sergio Alonso, Enric Alvarez-Lacalle, Marti Catala, Daniel Cuadras.

Supervision: Maria Mele-Casas, Cristian Launes, Mariona F. de Sevilla, Maria Hernandez-Garcia, Quique Bassat, Victoria Fumado, Claudia Fortuny, Aleix Garcia-Miquel, Elisenda Bonet-Carne, Joana Claverol, Carmen Muñoz-Almagro, Eduard Gratacos, Iolanda Jordan, Juan Jose Garcia-Garcia.

Validation: Maria Mele-Casas, Cristian Launes, Mariona F. de Sevilla, Maria Hernandez-Garcia, Gemma Pons-Tomas, Quique Bassat, Victoria Fumado, Claudia Fortuny, Elisenda Bonet-Carne, Clara Prats, Carmen Muñoz-Almagro, Eduard Gratacos, Iolanda Jordan, Juan Jose Garcia-Garcia.

Visualization: Maria Mele-Casas, Cristian Launes, Mariona F. de Sevilla, Maria Hernandez-Garcia, Gemma Pons-Tomas, Quique Bassat, Victoria Fumado, Claudia Fortuny, Aleix Garcia-Miquel, Clara Prats, Carmen Muñoz-Almagro, Iolanda Jordan, Juan Jose Garcia-Garcia.

Writing – original draft: Maria Mele-Casas, Cristian Launes, Mariona F. de Sevilla, Maria Hernandez-Garcia, Gemma Pons-Tomas.

Writing – review & editing: Maria Mele-Casas, Cristian Launes, Mariona F. de Sevilla, Quique Bassat, Carmen Muñoz-Almagro, Iolanda Jordan, Juan Jose Garcia-Garcia.

References

1. Goldstein E, Lipsitch M. Temporal rise in the proportion of younger adults and older adolescents among coronavirus disease (COVID-19) cases following the introduction of physical distancing measures, Germany, March to April 2020. *Euro Surveill.* 2020 Apr; 25(17):2000596. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.17.2000596> PMID: 32372753
2. Huang L, Zhang X, Zhang X, Wei Z, Zhang L, Xu J, et al. Rapid asymptomatic transmission of COVID-19 during the incubation period demonstrating strong infectivity in a cluster of youngsters aged 16–23 years outside Wuhan and characteristics of young patients with COVID-19: A prospective contact-tracing study. *J Infect [Internet].* 2020 Jun; 80(6):e1–13. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0163445320301171>
3. Lau LLH, Nishiura H, Kelly H, Ip DKM, Leung GM, Cowling BJ. Household transmission of 2009 pandemic influenza A (H1N1). *Epidemiology [Internet].* 2012 Jul; 23(4):531–42. Available from: <https://journals.lww.com/00001648-201207000-00005>
4. Munro APS, Faust SN. Children are not COVID-19 super spreaders: time to go back to school. *Arch Dis Child [Internet].* 2020 Jul; 105(7):618–9. Available from: <https://adc.bmj.com/lookup/doi/10.1136/archdischild-2020-319474> PMID: 32371442
5. Lanari M, Chiereghin A, Biserni GB, Rocca A, Re MC, Lazzarotto T. Children and SARS-CoV-2 infection: innocent bystanders. . .until proven otherwise. *Clin Microbiol Infect [Internet].* 2020 Sep; 26(9):1130–2. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1198743X2030361X> <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.06.017> PMID: 32593743
6. Lei H, Xu X, Xiao S, Wu X, Shu Y. Household transmission of COVID-19—a systematic review and meta-analysis. *J Infect.* 2020; 3(12):1–17. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.08.033> PMID: 32858069
7. Kim J, Choe YJ, Lee J, Park YJ, Park O, Han MS, et al. Role of children in household transmission of COVID-19. *Arch Dis Child.* 2020;1–3. <https://doi.org/10.1136/archdischild-2020-319910> PMID: 32769089
8. Pollán M, Pérez-Gómez B, Pastor-Barriuso, Oteo J, Hernán MA, Pérez-Olmeda M, et al. Prevalence of SARS-CoV-2 in Spain (ENE-COVID): a nationwide, population-based seroepidemiological study. *Lancet* 2020; 396: 535–44 Published Online July 6, 2020 [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31483-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31483-5) PMID: 32645347
9. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Cases & Data: COVID-19 Weekly Cases and Deaths per 100,000 Population by Age, Race/Ethnicity, and Sex.
10. Koh W, Naing L, Chaw L, Rosledzana M, Alikhan M, Jamaludin S et al. What do we know about SARS-CoV-2 transmission? A systematic review and meta-analysis of the secondary attack rate and associated risk factors. *PLoS One.* 2020 Oct. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0240205> PMID: 33031427
11. Lewis NM, Chu VT, Ye D, Conners EE, Gharpure R, Laws RL, et al. Household transmission of SARS-CoV-2 in the United States. *Clin Infect Dis.* 2020 Aug 16.
12. Jordan I, de Sevilla MF, Fumado V, Bassat Q, Bonet-Carne E, Fortuny C, et al. Transmission of SARS-CoV-2 infection among children in summer schools applying stringent control measures in Barcelona, Spain. *Clin Infect Dis [Internet].* 2021 Mar 12; 0(0):1–14. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/07853890.2020.1840620>
13. Fraser C. Estimating individual and household reproduction numbers in an emerging epidemic. *PLoS One.* 2007; 2(8).
14. Chen Z, Tong L, Zhou Y, Hua C, Wang W, Fu J, et al. Childhood COVID-19: a multicentre retrospective study. *Clin Microbiol Infect.* 2020; 26(9):1260.e1–1260.e4. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.06.015> PMID: 32599159
15. Wood R, Thomson E, Galbraith R, Gribben C, Caldwell D, Bishop J, et al. Sharing a household with children and risk of COVID-19: a study of over 300 000 adults living in healthcare worker households in Scotland. *Arch Dis Child.* 2021;1–6. <https://doi.org/10.1136/archdischild-2021-321604> PMID: 33737319
16. Laws R, Chancey R, Rabold E, Chu V, Lewis N, Fajans M, et al. Symptoms and transmission of SARS-CoV-2 among children—Utah and Wisconsin, March–May 2020. *Pediatrics.* Volume 147, number 1, January 2021.

17. Zhu Y, Bloxham CJ, Hulme KD, Sinclair JE, Tong ZWM, Steele LE, et al. A meta-analysis on the role of children in SARS-CoV-2 in household transmission clusters. *Clin Infect Dis*. 2020 Dec 6.
18. Madewell ZJ, Yang Y, Longini IM, Halloran ME, Dean NE. Household Transmission of SARS-CoV-2: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Netw open*. 2020; 3(12):e2031756. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2020.31756> PMID: 33315116
19. Jørgensen S, Nygård K, Kacelnik O, Telle K. Secondary attack rates for omicron and delta variants of SARS-CoV-2 in Norwegian households. *JAMA*. 2022 Mar 7;e223780. <https://doi.org/10.1001/jama.2022.3780> Online ahead of print. PMID: 35254379
20. Soriano-Arandes A, Gatell A, Serrano P, Biosca M, Campillo F, Capdevila R, et al. Household SARS-CoV-2 transmission and children: a network prospective study. *Clin Infect Dis [Internet]*. 2021 Mar 12; 26(6):1–15. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924977X16300050%5Cnhttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27139079>
21. Kelvin AA, Halperin S. COVID-19 in children: the link in the transmission chain. *Lancet Infect Dis*. 2020 Jun; 20(6):633–4. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30236-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30236-X) PMID: 32220651
22. Brotons P, Launes C, Buetas E, Fumado V, Henares D, de Sevilla MF, et al. Susceptibility to Sars-CoV-2 infection among children and adults: a seroprevalence study of family households in the Barcelona Metropolitan Region, Spain. *Clin Infect Dis*. 2020 Nov 12.
23. Li X, Xu W, Dozier M, He Y, Kirolos A, Lang Z, et al. The role of children in the transmission of SARS-CoV2: updated rapid review. *J Glob Health*. 2020 Dec; 10(2):021101. <https://doi.org/10.7189/jogh.10.021101> PMID: 33312511
24. Madera S, Crawford E, Langelier C, Tran NK, Thornborrow E, Miller S, et al. Nasopharyngeal SARS-CoV-2 viral loads in young children do not differ significantly from those in older children and adults. *Sci Rep [Internet]*. 2021; 11(1):1–4. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-81934-w>
25. Heald-Sargent T, Muller WJ, Zheng X, Rippe J, Patel AB, Kociolek LK. Age-related differences in nasopharyngeal severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) levels in patients with mild to moderate coronavirus disease 2019 (COVID-19). *JAMA Pediatr [Internet]*. 2020 Sep 1; 174(9):902. Available from: <https://jamanetwork.com/journals/jamapediatrics/fullarticle/2768952>
26. Singanayagam A, Patel M, Charlett A, Bernal JL, Saliba V, Ellis J, et al. Duration of infectiousness and correlation with RT-PCR cycle threshold values in cases of COVID-19, England, January to May 2020. *Eurosurveillance*. 2020; 25(32):1–5. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.32.2001483> PMID: 32794447
27. Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, Seilmaier M, Zange S, Müller MA, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*. 2020; 581(7809):465–9. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2196-x> PMID: 32235945
28. Gastine S, Pang J, Boshier FAT, Carter SJ, Lonsdale DO, Cortina-Borja M, et al. Systematic review and patient-level meta-analysis of SARS-CoV-2 viral dynamics to model response to antiviral therapies. *Clin Pharmacol Ther*. 2021; 110(2):321–333. <https://doi.org/10.1002/cpt.2223> PMID: 33641159

4.3 TERCER ARTÍCULO

4.3.1 Resumen del tercer artículo

Bajo impacto de la infección por SARS-CoV-2 entre la enfermedad respiratoria aguda pediátrica que precisa hospitalización

Metodología:

Se trata de un estudio observacional y prospectivo para describir los aspectos clínicos, epidemiológicos y microbiológicos de los niños que requirieron ingreso hospitalario por infección respiratoria de vías bajas durante la primera ola pandémica. Se compararon las variables entre pacientes con infección confirmada por SARS-CoV-2 y aquellos en los que no se detectó.

El estudio se llevó a cabo en el Hospital Sant Joan de Déu, hospital de referencia pediátrico con 300 camas de hospitalización, que además durante la primera ola de la pandemia asumió la mayoría de las hospitalizaciones pediátricas regionales debido al cierre de los servicios pediátricos de los hospitales generales.

Se incluyeron pacientes menores de 18 años con infección respiratoria de vías bajas (neumonía, bronquiolitis, broncoespasmo o bronconeumonía) que requirieron ingreso hospitalario. El estudio fue realizado durante el primer pico pandémico en España (semana 11-20/2020) tras la imposición de estrictas medidas de contacto social (se declaró el estado de emergencia la semana 10/2020).

Se recolectaron muestras nasofaríngeas de todos los niños menores de 18 años con síntomas respiratorios y/o fiebre en el servicio de urgencias. Previo al ingreso se testaban mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR-RT) para la detección de ARN de SARS-CoV-2. El virus Influenza A/B y el virus respiratorio sincitial (VRS) también se testaron de manera rutinaria usando ensayos moleculares automatizados hasta el final de estas epidemias virales (semana 16/2020). Se realizó PCR-RT para múltiples patógenos en aquellos en los que las muestras respiratorias estaban disponibles para volver a analizar después del diagnóstico microbiológico de rutina.

Resultados:

1. Características epidemiológicas

Se incluyeron 110 pacientes con infección respiratoria de vías bajas. 7 pacientes (6%) eran SARS-CoV-2 (+) y eran mayores en comparación con los pacientes SARS-CoV-2 (-) (16,9 vs 3,5 años, $p=0,004$). Solo 3/7 pacientes SARS-CoV-2 (+) tenían un contacto domiciliario confirmado ($p=0,03$).

Solo 2 pacientes tenían comorbilidades (1 obesidad, 1 leucemia) en el grupo SARS-CoV-2(+), mientras que la patología respiratoria preexistente (principalmente sibilancias recurrentes inducidas por virus) y neurológica eran bastante comunes entre el grupo SARS-CoV-2 (-) (44% y 13%, respectivamente). Pese a ello no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

2. Características clínicas

No hubo diferencias significativas en los síntomas entre los pacientes SARS-CoV-2(+) y SARS-CoV-2(-). Sin embargo, los niños SARS-CoV-2(+) requirieron ingreso después de 7 días (RIC: 4-9) desde el inicio de los síntomas, tendiendo a ser mayor que en aquellos SARS-CoV-2 (-) (4, RIC: 2-7; $p=0,052$).

Entre los pacientes con SARS-CoV-2 (+), la neumonía fue el principal diagnóstico clínico (6/7) y el broncoespasmo estuvo ausente (0/7 vs 77/103, $p < 0.001$). Solo 1 de los 29 recién nacidos diagnosticados con bronquiolitis fue SARS-CoV-2 (+), requiriendo oxigenoterapia durante menos de 24 horas.

No hubo diferencias en las tasas de ingreso en la unidad de cuidados intensivos pediátricos entre los pacientes SARS-CoV-2 (+) y (-). Aun y así, dos pacientes SARS-CoV-2(+) requirieron soporte inotrópico mientras que ninguno del grupo SARS-CoV-2(-) requirieron este tratamiento ($p=0,004$).

3. Características radiológicas y analíticas

No se observaron diferencias en los patrones radiológicos de la radiografía de tórax entre pacientes SARS-CoV-2(+) y (-).

Se encontraron valores más bajos de leucocitos, linfocitos, neutrófilos y plaquetas y valores más altos de creatinina en los pacientes SARS-CoV-2 (+).

4. Características microbiológicas

Se observó codetección viral en 1/4 pacientes con SARS-COV-2(+) (un paciente con infección por *Influenza B*, *Rinovirus/Enterovirus* (HRV/EV) y *Parainfluenza*), mientras que la codetección viral fue observada en 25/28 pacientes con SARS-CoV-2(-) testados para múltiples patógenos virales. Entre los pacientes SARS-CoV-2(-), HRV/EV fue la principal detección viral (10/28).

11 pacientes, todos en el grupo de SARS-CoV-2(-), tenían una neumonía bacteriana confirmada (6 *Mycoplasma pneumoniae*, 2 *Streptococcus pneumoniae*, 2 bacterias Gram negativas y 1 *Staphylococcus aureus*).

Conclusiones:

La mayoría de los ingresos por infección respiratoria de vías bajas durante la primera ola de la pandemia no estaban relacionados con la infección por SARS-CoV-2.

Los ingresos hospitalarios por SARS-CoV-2 principalmente correspondían a neumonías en niños mayores/adolescentes.

4.3.2 Documento del tercer artículo

Low impact of SARS-CoV-2 infection among paediatric acute respiratory disease hospitalizations

Melé M, Henares D, Pino R, Asenjo S, Matamoros R, Fumadó V, Fortuny C, García-García JJ, Jordan I, Brotons P, Muñoz-Almagro C, F-de-Sevilla M, Launes C; on behalf of Kids-Corona Paediatric Hospitalist group

Artículo publicado en:

Journal of Infection. 2021.

Volumen 82. Páginas: 431-434.

JCR 2021: Q1 Infectious Diseases

Factor de impacto 2021: 38.637

7. Hoffmann E, Stech J, Guan Y, Webster RG, Perez DR. Universal primer set for the full-length amplification of all influenza A viruses. *Arch Virol* Dec 2001;**146**(12):2275–89 PubMed PMID: 11811679. Epub 2002/01/29.
8. Yamaji R, Saad MD, Davis CT, Swayne DE, Wang D, Wong FYK, et al. Pandemic potential of highly pathogenic avian influenza clade 2.3.4.4 A(H5) viruses. *Rev Med Virol* May 2020;**30**(3):e2099 PubMed PMID: 32135031. Epub 2020/03/07.
9. Xu L, Bao L, Lau SY, Wu WL, Yuan J, Gu S, et al. Hemagglutinin amino acids related to receptor specificity could affect the protection efficacy of H5N1 and H7N9 avian influenza virus vaccines in mice. *Vaccine* 2016 May 17;**34**(23):2627–33 PubMed PMID: 27083426. Epub 2016/04/17.
10. Hanpaibool C, Leelawiwat M, Takahashi K, Rungrotmongkol T. Source of oseltamivir resistance due to single E119D and double E119D/H274Y mutations in pdm09H1N1 influenza neuraminidase. *J Comput Aided Mol Des* Jan 2020;**34**(1):27–37 PubMed PMID: 31773463. Epub 2019/11/28.

Jing Yang¹

College of Life Science and Engineering, Foshan University, No. 33
Guangyun road, Shishan town, Nanhai district, Foshan 528231,
Guangdong, China

Yong Li¹

College of Animal Science and Technology, Jiangxi Agricultural
University, Nanchang 330045, Jiangxi, China

Jinyue Guo

College of Life Science and Engineering, Foshan University, No. 33
Guangyun road, Shishan town, Nanhai district, Foshan 528231,
Guangdong, China

Kaijian Luo

College of Veterinary Medicine, South China Agricultural University,
Guangzhou 510642, Guangdong, China

Hai Yu

Shanghai Veterinary Research Institute, Chinese Academy of
Agricultural Sciences, Shanghai 200241, China

Yao Chen, Anqi Li, Sheng Yuan

College of Life Science and Engineering, Foshan University, No. 33
Guangyun road, Shishan town, Nanhai district, Foshan 528231,
Guangdong, China

Saeed El-Ashram

College of Life Science and Engineering, Foshan University, No. 33
Guangyun road, Shishan town, Nanhai district, Foshan 528231,
Guangdong, China

Faculty of Science, Kafrelsheikh University, Kafr el-Sheikh 33516,
Egypt

Shujian Huang, Feng Wen*

College of Life Science and Engineering, Foshan University, No. 33
Guangyun road, Shishan town, Nanhai district, Foshan 528231,
Guangdong, China

*Corresponding author.

E-mail address: wenf@fosu.edu.cn (F. Wen)

¹ Equal contribution to this study.

Accepted 19 October 2020

Available online 21 October 2020

<https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.10.014>

© 2020 The British Infection Association. Published by Elsevier
Ltd. All rights reserved.

Low impact of SARS-CoV-2 infection among paediatric acute respiratory disease hospitalizations



Dear Editor,

We read with interest the article by Pagani et al.¹, in which the authors report that 0 to 19-year-old children exhibit the lowest SARS-CoV-2 IgG seroprevalence among all the age-groups. In our centre, which is a 250-bed reference paediatric hospital located in Barcelona, 960 patients with fever and/or respiratory symptoms were tested for SARS-CoV-2 in the emergency department during the regional pandemic peak (week 11–20/2020) and only 56 of them were positive (6%). Thirty-one of them were admitted to hospital (Table S1, Supplementary data) and only 7 with an acute-lower respiratory disease (ALRD). Our centre captured most of regional paediatric hospitalizations due to the closure of paediatric services of general hospitals during the pandemics.

Lower respiratory tract infections are one of the leading causes of paediatric mortality and morbidity worldwide, and they also cause a high number of hospitalizations in well-developed countries.² Several reports have described that SARS-CoV-2 infection causes a much milder respiratory disease in children in comparison to adults,^{3–6} but the real burden of SARS-CoV-2 infection in children requiring for hospital admission due to ALRD during the pandemics has not been addressed specifically. This study describes the clinical, epidemiological, and microbiological characteristics of children requiring admission with an ALRD during the first pandemic wave. Comparison of variables was made between patients with SARS-CoV-2 confirmed infection (SARS-CoV-2(+)) and those in whom SARS-CoV-2 was not detected (SARS-CoV-2(-)).

Data of patients < 18 year-old with ALRD (pneumonia, bronchiolitis, bronchospasm, or bronchopneumonia) requiring hospital admission were prospectively collected. The study was performed during the first pandemic peak in Spain (week 11–20/2020) after imposition of strict social contact measures (a state of emergency was declared on week 10/2020).⁷ Nasopharyngeal samples were collected from all children < 18 year-old with respiratory symptoms and/or fever in our emergency department. They were tested at admission using a real-time polymerase chain reaction assay for RNA detection of SARS-CoV-2. Influenza and respiratory syncytial viruses were also routinely tested using automated molecular assays until the end of these viral epidemics (week 16/2020). A real-time PCR for multiple pathogens was performed in those in whom respiratory specimens were available for re-test after routine microbiological diagnosis. Specific information about microbiological methods and definitions can be found at Supplementary data. This study was approved by the institutional ethical research committee.

411 patients were admitted during the study period, 125 (30%) with a diagnosis of ALRD. Informed consent was obtained from 110 (88%) and they were included in the study. Of them, 7 (6%) were SARS-CoV-2(+).

Median age of SARS-CoV-2(+) children was 16.9 year-old (interquartile range (IQR):11.7–17.7), being significantly higher in comparison to SARS-CoV-2(-) (3.5, IQR:0.9–7.5; $p=0.004$). Only 2 patients had comorbidities (1 obesity, 1 leukaemia) in the SARS-CoV-2(+) group, whereas pre-existing respiratory conditions (recurrent viral-induced wheezing chiefly) and neurologic chronic conditions were not found despite being quite common among those SARS-CoV-2(-) (44% and 13%, respectively). Only 3/7 SARS-CoV-2(+) patients had a household confirmed contact [Table 1](#).

There were not significant differences in symptoms between SARS-CoV-2(+) and SARS-CoV-2(-) patients [Table 1](#). Nevertheless,

Table 1

Main epidemiologic, clinical, analytical, and microbiological characteristics of patients with an ALRD admitted during the pandemics in a tertiary care hospital in Catalonia.

	Total (n = 110)	SARS-CoV-2 (+)(n = 7)	SARS-CoV-2 (-)(n = 103)	p-value
Age (year-old)*	3.7 (0.9–8.4)	16.8 (11.7–17.6)	3.5 (0.9–7.5)	0.004
Sex (males)	55 (50%)	4 (51%)	51 (49%)	1
Previously healthy (n)	47 (43%)	5 (71%)	42 (41%)	0.236
- Pulmonary conditions	45 (41%)	0 (0%)	45 (44%)	0.040
- Neurologic condition	13 (12%)	0 (0%)	13 (13%)	1
- Cardiovascular conditions	4 (3.6%)	1 (14%)	3 (3%)	0.234
- Haematologic malignancy	2 (2%)	1 (14%)	1 (1%)	0.124
Ethnicity (Caucasian) (n)	64 (58%)	5 (71%)	59 (57%)	0.657
Household confirmed contacts (n with > 1 confirmed contact)	6 (5%)	3 (43%)	3 (2%)	0.003
Symptoms at hospital admission (n):				
- Cough	105 (95%)	6 (86%)	99 (96%)	0.285
- Wet cough	61 (55%)	2 (29%)	59 (57%)	0.238
- Fever	80 (73%)	7 (100%)	73 (71%)	0.186
- Gastrointestinal	21 (19%)	2 (29%)	19 (18%)	0.618
- Exanthem	4 (4%)	1 (14%)	3 (3%)	0.236
Time-lag from the onset of symptoms to hospital admission (days)*	4 (2–7)	7 (4–9)	4 (2–7)	0.052
HbSat at admission (%)*	94 (92–96)	94 (91–96)	94 (92–96)	0.909
Chest-X-ray at admission (n/total in whom the test was performed)				
- Normal	12 / 80	0 / 7	12 / 72	0.587
- Lobar pneumonia	22 / 80	4 / 7	18 / 72	0.089
- Interstitial pneumonia	39 / 80	2 / 7	37 / 72	0.431
- Pleural effusion	6 / 80	1 / 7	5 / 72	0.442
Required respiratory support during admission (n):				
- NNCC	78 (71%)	4 (57%)	74 (72%)	0.413
- HFNO	14 (13%)	0 (0%)	14 (14%)	0.592
- NIV	7 (6%)	1 (14%)	6 (6%)	0.380
- MV	2 (2%)	1 (14%)	1 (1%)	0.125
Length of fever (days)*	4 (2–6)	5 (3–11)	4 (2–6)	0.231
Length of oxygen requirements (days)*	2 (1–4)	4 (2–11)	2 (1–4)	0.097
PICU admission (n)	11 (10%)	2 (29%)	9 (9%)	0.145
Need for inotropes (n)	2 (2%)	2 (29%)	0 (0%)	0.004
Other viral pathogens (n/total tested)				
- RSV	4 / 69	0 / 4	4 / 65	1
- Parainfluenza 1	1 / 32	1 / 4	0 / 28	0.125
- Parainfluenza 4	1 / 32	0 / 4	1 / 28	1
- Influenza A	3 / 70	0 / 4	3 / 66	1
- Influenza B	6 / 70	1 / 4	5 / 66	0.307
- Pre-pandemic coronaviruses	1 / 32	0 / 4	1 / 28	1
- HRV/EV	11 / 32	1 / 4	10 / 28	1
- Adenovirus	2 / 32	0 / 4	2 / 28	1
- Metapneumovirus	2 / 32	0 / 4	2 / 28	1
Clinical classification:				
- Bronchiolitis	29 (26%)	1 (14%)	28 (27%)	0.520
- Bronchospasm/viral-induced wheezing	33 (30%)	0 (0%)	33 (32%)	0.134
- Viral pneumonia	23 (21%)	4 (57%)	19 (18%)	0.030
- Bacterial suspected pneumonia	25 (23%)	2 (29%)	23 (22%)	0.737
Analytical features at admission*:				
- Haemoglobin (g/L)	11.7 (10.9–12.7)	12.4 (11.6–12.7)	11.7 (10.8–12.9)	0.417
- Leukocytes (cells x 10 ⁹ /L)	11.6 (6.9–18.2)	5.5 (3.1–7.9)	13.8 (7.2–19.4)	0.001
- Lymphocytes (cells x 10 ⁹ /L)	2.4 (1.0–3.7)	0.7 (0.4–1.7)	2.8 (1.1–4.1)	0.007
- Neutrophils (cells x 10 ⁹ /L)	7.0 (3.9–12.5)	3.4 (1.5–5.8)	7.5 (4.3–12.6)	0.010
- Platelets (cells x 10 ⁹ /L)	338 (243–448)	164 (127–262)	355 (264–468)	0.012
- C-reactive protein (mg/L)	37 (13–81)	48 (15–138)	36 (12–88)	0.662
- Procalcitonin (ng/mL)	0.24 (0.08–0.95)	0.06 (0.04–2.42)	0.25 (0.09–1.01)	0.098
- D-dimer (mg/L)	0.95 (0.67–1.91)	0.80 (0.49–4.22)	1.09 (0.76–2.58)	0.602
- Ferritin (µg/L)	183 (88–449)	350 (144–2580)	99 (85–269)	0.072
- Alanine transaminase (UI/L)	13 (8–20)	38 (17–89)	13 (8–17)	0.064
- Aspartate Aminotransferase (UI/L)	24 (18–38)	50 (21–57)	24 (18–33)	0.229
- Creatinine (mg/dL)	0.51 (0.42–0.64)	0.77 (0.67–0.93)	0.48 (0.40–0.59)	0.007
Hospital stay (days)*	3 (2–5)	11 (3–16)	3 (2–5)	0.024

* median (interquartile-range) Proportions between the groups (SARS-CoV-2(+)) Vs SARS-CoV-2(-)) were compared using Pearson Chi-square or Fisher exact test. For continuous variables, the Mann-Whitney U test was performed. NNCC: nasal cannula; HFNO: high-flow nasal cannula; NIV: non-invasive ventilation; IMV: invasive mechanical ventilation; RSV: respiratory syncytial virus; HRV: human rhinovirus; EV: enterovirus.

SARS-CoV-2(+) children required admission after 7 days (IRQ:4–9) since symptoms onset and this time-lag tended to be higher than in those SARS-CoV-2(-) (4, IQR:2–7; $p = 0.052$). Regarding physical examination, bronchospasm was not observed in SARS-CoV-2(+) (0/7 vs 77/103, $p < 0.001$). Pneumonia was the main clinical diagnosis in SARS-CoV-2(+) children (6/7). Differences in chest-X-ray radiologic patterns were not observed between those SARS-CoV-2(+) and (-). Lower values of leucocytes, lymphocytes, neutrophils, and platelets and higher values of creatinine were found in SARS-

CoV-2(+) [Table 1](#). The only patient with bronchiolitis and SARS-CoV-2(+) was a new-born male who required oxygen for less than 24 h.

Seventy patients were tested for influenza infection, 69 for RSV and 32 for multiple viral pathogens. Viral codetection was observed in 1 of 4 SARS-CoV-2(+) patients (1 with influenza B, human-rhinovirus/enterovirus (HRV/EV) and parainfluenza), while viral codetection was observed in 25 of 28 SARS-CoV-2(-) patients tested for multiple viral pathogens. Among SARS-CoV-2(-) patients,

HRV/EV was the main viral detection (10/28). There were not significant differences in weekly rates of respiratory virus detections across the study period. Eleven patients, all in the SARS-CoV-2(-) group, had a confirmed bacterial pneumonia (6 *Mycoplasma pneumoniae*, 2 *Streptococcus pneumoniae*, 2 Gram-negative bacteria and 1 *Staphylococcus aureus*).

Despite there were not differences in PICU admission rates between SARS-CoV-2(+) and (-) children, two SARS-CoV-2(+) patients required inotropic support whereas none of SARS-CoV-2(-) required this treatment ($p=0.004$). Hospital stay was longer (11 days (IQR:3–16) vs 3 (IQR:2–5); $p=0.024$) and 1 patient died in the SARS-CoV-2(+) group. This was an 11 y-old boy with an influenza B coinfection and a graft-versus-host disease after an allogenic transplant due to an acute lymphocytic leukaemia. Table S2, Supplementary data.

Our results suggest that, despite conducting the study during the pandemic peak, those children who required hospital admission were infected more often by other respiratory microorganisms. Pneumonia was the main clinical diagnosis among SARS-CoV-2(+) children, and they showed indistinguishable clinical and radiological characteristics at hospital admission from those SARS-CoV-2(-), as observed by others.⁴ Nonetheless, the two groups showed different analytical features and SARS-CoV-2(+) patients were significantly older.

There are some cases reports of infants with bronchiolitis in whom SARS-CoV-2 was the only infection detected.⁸ Literature is scarce addressing this topic, but SARS-CoV-2 does not seem to be a main trigger of bronchiolitis.⁹ It caused only 1/29 episodes in our series. In the pre-COVID-19 era, viral coinfection in infants with bronchiolitis caused by coronaviruses was very common (85%).¹⁰ Since the pandemic did not coincide with the bronchiolitis season, the behaviour of the emergent virus in coinfection with other well-known triggers of bronchiolitis is uncertain.

The main limitation of this study was its observational design, as heterogeneous tests were performed in each patient depending on their clinical condition and the epidemiological context. Most patients with ALRD had fever (73/103), therefore a presumable viral infection could be assumed, however a low rate of patients was tested for multiple pathogens. On the other hand, a low number of SARS-CoV-2(+) respiratory patients was found.

To conclude, most of the ALRD episodes identified during the pandemics and under strict lockdown measures were not related to SARS-CoV-2 infection in this study. SARS-CoV-2 was mainly found causing pneumonia in older children, whereas the impact of SARS-CoV-2 infection among ALRD hospitalizations was low in young children.

Authorship

All authors have made substantial contributions to all the following: the conception and design of the study, the acquisition, analysis, and interpretation of data, drafting the article and revising it. The Kids-Corona Paediatric Hospitalist group carried out a very important task collecting data and taking care of patients.

Funding

This study was supported by the Kids Corona platform (Hospital Sant Joan de Déu). The funders have not influenced the design or analysis, nor have they had any role in preparing the manuscript.

The authors declare no potential conflicts of interest.

Ethics statement

The institutional ethics board approved the study and informed consent was obtained from parents or carers.

Supplementary materials

Supplementary material associated with this article can be found, in the online version, at doi:[10.1016/j.jinf.2020.10.013](https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.10.013).

References

- Pagani G., Conti F., Giacomelli A., et al. Seroprevalence of SARS-CoV-2 significantly varies with age: preliminary results from a mass population screening. *J Infect* 2020 S0163-4453(20)30629-0. doi:[10.1016/j.jinf.2020.09.021](https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.09.021).
- Sinaniotis C.A. Viral pneumoniae in children: incidence and aetiology. *Paediatr Respir Rev* 2004;5:S197–200. doi:[10.1016/s1526-0542\(04\)90037-1](https://doi.org/10.1016/s1526-0542(04)90037-1).
- Cevik M., Bamford C.G.G., Ho A. COVID-19 pandemic—a focused review for clinicians. *Clin Microbiol Infect* 2020;26:842–7. doi:[10.1016/j.cmi.2020.04.023](https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.04.023).
- Katal S., Johnston S.K., Johnston J.H., et al. Imaging findings of SARS-CoV-2 infection in pediatrics: a systematic review of coronavirus disease 2019 (COVID-19) in 850 patients. *Acad Radiol* 2020 S1076-633230454-2. doi:[10.1016/j.acra.2020.07.031](https://doi.org/10.1016/j.acra.2020.07.031).
- Chen Z., Tong L., Zhou Y., et al. Childhood COVID-19: a multicentre retrospective study. *Clin Microbiol Infect* 2020;26:1260.e1–4. doi:[10.1016/j.cmi.2020.06.015](https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.06.015).
- Parri N., Lenge M., Buonsenso D. Children with Covid-19 in pediatric emergency departments in Italy. *N Engl J Med* 2020;383:187–90. doi:[10.1056/NEJMc2007617](https://doi.org/10.1056/NEJMc2007617).
- Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias Sanitarias (Ministerio de Sanidad). Información científica-técnica Enfermedad por coronavirus, COVID-19. 17 April 2020. [Available at: https://www.mscbs.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/20200417_ITCoronavirus.pdf]
- Grimaud E., Challiol M., Guilbaud C., et al. Delayed acute bronchiolitis in infants hospitalized for COVID-19. *Pediatr Pulmonol* 2020;55:2211–12. doi:[10.1002/ppul.24946](https://doi.org/10.1002/ppul.24946).
- Zhang B., Liu S., Zhang J., et al. Children hospitalized for coronavirus disease 2019 (COVID-19): a multicenter retrospective descriptive study. *J Infect* 2020;81:e74–5. doi:[10.1016/j.jinf.2020.04.045](https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.04.045).
- Mansbach J.M., Hasegawa K., Piedra P.A., et al. Severe coronavirus bronchiolitis in the pre-COVID-19 Era. *Pediatrics* 2020;146:e20201267. doi:[10.1542/peds.2020-1267](https://doi.org/10.1542/peds.2020-1267).

Maria Melé

on behalf of Paediatrics Department, Hospital Sant Joan de Déu (HSJD), Barcelona, Spain

Desiree Henares

Molecular Microbiology Department, HSJD, Barcelona, Spain

Rosa Pino, Silvia Asenjo, Rocío Matamoros

Paediatrics Department, Hospital Sant Joan de Déu (HSJD), Barcelona, Spain

Victoria Fumadó

Paediatric Infectious Diseases Department, HSJD, Barcelona, Spain
University of Barcelona, Barcelona, Spain

Paediatric Infectious Diseases Research Group, Institut de Recerca Sant Joan de Déu, Barcelona, Spain

Claudia Fortuny

Paediatric Infectious Diseases Department, HSJD, Barcelona, Spain
University of Barcelona, Barcelona, Spain

Paediatric Infectious Diseases Research Group, Institut de Recerca Sant Joan de Déu, Barcelona, Spain

CIBER of Epidemiology and Public Health (CIBERESP), Madrid, Spain

Juan-José García-García

Paediatrics Department, Hospital Sant Joan de Déu (HSJD), Barcelona, Spain

University of Barcelona, Barcelona, Spain

Paediatric Infectious Diseases Research Group, Institut de Recerca Sant Joan de Déu, Barcelona, Spain

CIBER of Epidemiology and Public Health (CIBERESP), Madrid, Spain

Iolanda Jordan

University of Barcelona, Barcelona, Spain

Paediatric Infectious Diseases Research Group, Institut de Recerca Sant Joan de Déu, Barcelona, Spain

CIBER of Epidemiology and Public Health (CIBERESP), Madrid, Spain
Paediatric Intensive Care Unit, HSJD, Barcelona, Spain

Pedro Brotons
Paediatric Infectious Diseases Research Group, Institut de Recerca
Sant Joan de Déu, Barcelona, Spain
CIBER of Epidemiology and Public Health (CIBERESP), Madrid, Spain
Paediatric Intensive Care Unit, HSJD, Barcelona, Spain

Carmen Muñoz-Almagro
Molecular Microbiology Department, HSJD, Barcelona, Spain
Paediatric Infectious Diseases Research Group, Institut de Recerca
Sant Joan de Déu, Barcelona, Spain
CIBER of Epidemiology and Public Health (CIBERESP), Madrid, Spain
Universitat Internacional de Catalunya, Barcelona, Spain

Mariona-Fernández de-Sevilla, Cristian Launes*
Paediatrics Department, Hospital Sant Joan de Déu (HSJD),
Barcelona, Spain
University of Barcelona, Barcelona, Spain
Paediatric Infectious Diseases Research Group, Institut de Recerca
Sant Joan de Déu, Barcelona, Spain
CIBER of Epidemiology and Public Health (CIBERESP), Madrid, Spain

*Corresponding author at: Infectious Diseases Research Group,
Paediatrics Department, Institut de Recerca Pediàtrica Hospital
Sant Joan de Déu (HSJD), P. Sant Joan de Déu, no. 2, 08950
Esplugues, Barcelona, Spain.
E-mail address: claunes@sjdhospitalbarcelona.org (C. Launes)

¹ Laia Baleta, Ivan Cano, David Ferri, Raquel Garcia, Julià
Gotzens, Laura Lecina, Irene Marín, Laura Monfort, Carla Pretel,
Sílvia Ricart, Sara Riera
Accepted 19 October 2020
Available online 21 October 2020

<https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.10.013>

© 2020 The British Infection Association. Published by Elsevier
Ltd. All rights reserved.

Sex-disaggregated data confirm serum ferritin as an independent predictor of disease severity both in male and female COVID-19 patients



Dear Editor,

The current COVID-19 pandemic is revealing profound differences between men and women in disease outcomes. Available sex-disaggregated data for COVID-19 show equal numbers of cases between sexes with fatality rates higher in men than in women. The Italian data confirm this trend with male patients undergoing a worse outcome and a significantly higher lethality at all age groups (13, 9%) compared to females (9, 4%).¹

We recently reported that increased levels of ferritin were directly related with COVID-19 severity.² Particularly, patients who needed admission to the ICU showed 5.8 times higher serum ferritin compared to patients with mild disease. In light of the reported sex differences in COVID-19 severity and lethality, in this letter we present sex disaggregated data of routine serum laboratory testing performed on admission, including serum ferritin, according to disease severity.

141 patients confirmed as COVID-19 were admitted to the isolation ward of Emergency Department at Policlinico Umberto I Hospital in Rome, Italy, between March 2020 and June 2020, were studied. Serum samples were collected from patients upon ad-

mission before starting any treatment and tested by Laboratory Department. The patients were 60 females and 81 males, aging 64.48 (16,58) years. The 60 female patients included 44 patients (73.3%) with mild disease and 16 (26.7%) with acute respiratory distress syndrome (ARDS) and systemic inflammation (severe group). The 81 male patients included, 37 patients (45.7%) with mild disease and 44 (54.3%) in the severe group with a significantly higher number of severe cases in males (Chi-squared test $p < 0.001$). Disaggregating data by sex, the only parameter that showed a significant difference between male and female patients was ferritin (Table 1, Fig. 1A). Serum ferritin levels were positively correlated with severity of COVID-19 both in male and female patients (Fig. 1B-C). Moreover, ROC curve analysis confirmed the excellent prognostic accuracies of serum ferritin in discriminating patients with severe clinical conditions in both sexes (male patients: AUC 0.961, CI: 0.921 to 1000 $p < 0.001$; female patients: AUC 0.930, CI: 0.865 to 0.996 $p < 0.001$) (Fig. 1D-E) with different associated criterion (males: ferritin > 717 $\mu\text{g/L}$ – sensitivity 88.64% specificity 97.30%; females: ferritin > 596 $\mu\text{g/L}$ – sensitivity 81.25%, specificity 93.18%). Based on the severity of pulmonary impairment in CT scan and respiratory failure, the patients were divided in 4 groups according to the WHO guidelines.³ As shown in Table 2A regarding 60 female patients, 18 did not present CT alterations and did not need mechanical ventilation (Group 0-mild); 17 had changes in CT scan but did not need mechanical ventilation (Group 1-moderate); 15 presented CT scan alterations and needed mechanical ventilation (Group 2-severe); 10 showed CT alterations and needed ICU admission (Group 3-critical). Out of 81 male patients (Table 2B) 11 patients belonged to Group 0-mild; 15 to Group 1-moderate; 23 to Group 2-severe; 32 to Group 3-critical. Sex-disaggregated data obtained by re-analyzing the four groups of patients confirm that male patients have a worse disease severity than women (Chi-squared test for trend $p < 0.001$). Table 2A and B also report age and serum levels of C Reactive Protein (CRP), D-Dimer (D-D), Lactate Dehydrogenase (LDH), Neutrophil to Lymphocyte ratio (NLR) and ferritin in the different groups of female and male patients and Fig. 2A-B-C-D shows categorized box and whisker plots of ferritin and age according to COVID-19 severity in female and male patients. Multivariate logistic regression model including age, CRP, D-D, LDH, NLR and ferritin, demonstrated that serum ferritin resulted as an independent predictor of disease severity in male (OR = 1,0058, 95% CI, 1,0013 to 1,0103 $p < 0,001$) and female patients. (OR = 1,0048, 95% CI, 1,0018 to 1,0078 $p < 0,001$).

The outcome of COVID-19 appears to be influenced by the interaction among several genetic, environmental, gender and sex-dependent factors. COVID-19 can trigger a cytokine response storm (CRS) that is associated with high mortality but for which the underlying pathophysiology and diagnostics are not yet well characterized.⁴ Loss of balance between adaptive and innate immune systems may result in a hyper-inflammatory state and CRS.⁵ It has been reported that male patients have a greater inflammatory reaction, with higher levels of LDH, ferritin, and CRP but a lower lymphocyte count than females, adjusted by age and comorbidity.⁶ It is well known that the innate and adaptive immune responses to viral infections are more intense in females and that sex hormones act as important modulators of the immune response.⁷ Taken together our sex-disaggregated data show that serum ferritin levels progressively increase with the severity of the disease but males require intensive care more frequently than women. To note, ferritin is a key mediator of immune dysregulation, especially in conditions of extreme hyperferritinemia, via direct immune-suppressive and pro-inflammatory actions, contributing to the CRS involved in COVID-19 complications.^{2,8} Although it should be noted that the normal reference ranges for

5. DISCUSIÓN

El inicio de la pandemia por SARS-CoV-2 a principios de 2020, se acompañó de mucho desconcierto e incertidumbre. Por un lado, por el desconocimiento inicial acerca del virus, con múltiples dudas entorno a la clínica, morbimortalidad, transmisibilidad y susceptibilidad de la población al virus, con numerosa y nueva bibliografía procedente principalmente de China, y posteriormente de diferentes países con el progreso de la pandemia. El personal sanitario sufrió las consecuencias de enfrentarse a este nuevo patógeno, además en condiciones de colapso hospitalario tanto a nivel nacional como internacional.

Por otro lado, las numerosas políticas de control de la transmisión comunitaria impuestas por los diferentes gobiernos, y que también afectaban a la población pediátrica, ocasionaron gran preocupación a nivel mundial, dada la importante repercusión en todos los ámbitos (sanitario, económico, laboral, educativo...).

Es en este contexto inicial de la pandemia, cuando surgió la idea de realizar esta tesis, que pretende estudiar la susceptibilidad de los niños a la infección por SARS-CoV-2 y su capacidad de transmitir la infección.

Para evaluar la susceptibilidad a la infección por SARS-CoV-2 en la población pediátrica, se llevó a cabo un estudio de seroprevalencia domiciliario para poder valorar la seroprevalencia de los niños respecto a los adultos.

Este estudio demostró tasas similares de seroprevalencia de SARS-CoV-2 en niños y contactos adultos que convivían con un primer adulto infectado identificado en un mismo hogar, en condiciones de estricta cuarentena domiciliaria instaurada durante la primera ola pandémica en España.

Esta observación de tasas de infección por SARS-CoV-2 similares en niños y adultos está en acorde con los resultados de un estudio de 391 casos de COVID-19 y sus contactos cercanos (1.286), tanto familiares como no familiares, realizado en Shenzhen, China (45). En este estudio, se observaron diferencias menores en las tasas de infección en niños (7,4% en menores de 10 años, 7,1% entre 10-19 años) en comparación con los adultos (en el rango de 6,1% a 9,1% entre 20 a 59 años).

Las tasas de seroprevalencia determinadas en nuestro estudio doblan estos valores. Esta diferencia podría estar relacionada con el hecho que la identificación de casos secundarios en el referido estudio se realizó mediante RT-PCR en una sola determinación en un escenario agudo, mientras que en nuestro estudio se realizaron determinaciones serológicas 3-12 semanas después de la confirmación del primer caso notificado.

A su vez, un estudio de 105 casos de COVID-19 y sus contactos domiciliarios en la provincia de Hubei, China, identificó tasas de infección más bajas en la población pediátrica, resultando del 4,0% en niños menores de 18 años en comparación con el 17,1% en adultos (58). Otro estudio chino, llevado a cabo en Wuhan, de 85 pacientes con infección por SARS-CoV-2 y sus 155 contactos domiciliarios, observó una tasa de infección del 7,0% en pacientes pediátricos, en comparación a una tasa de 45,0% observada en adultos (59). También se realizó un estudio de rastreo de contactos en Taiwán, en el que a raíz de 100 casos índice se estudiaron 2.761 contactos cercanos, y de entre ellos 281 eran menores de 19 años. De todos los contactos pediátricos solo 1 se infectó, con una tasa de ataque secundaria de 0. Por lo que en comparación a los otros grupos de edad, donde las tasas de ataque variaban entre 0.5-1.1, se objetivó una

tasa de infección reducida en niños (43). De manera similar, en un estudio de seroprevalencia domiciliario realizado en el estado de Nueva York (60), las tasas de prevalencia en el domicilio según la edad oscilaron entre 20,0% entre contactos de niños menores de 5 años a 55,2% entre adultos mayores de 65 años de edad. Un dato remarcable es que estos cuatro estudios utilizaron RT-PCR para identificar casos, a diferencia de nuestro estudio en el que se utilizó una serología rápida. Una posible explicación a las diferencias de prevalencia relacionadas con la edad entre estudios de seroprevalencia realizados mediante pruebas serológicas (como el nuestro) o los basados en RT-PCR, sería una posible eliminación más rápida del virus en niños que en adultos, lo que resulta en menos niños identificados como positivos mediante RT-PCR en comparación con las pruebas serológicas.

En esta línea, otro estudio de seroprevalencia realizado, al igual que el nuestro, mediante pruebas serológicas (IgG en muestras de plasma) en Estados Unidos muestra resultados acordes con nuestro estudio, con tasas de seropositividad menores en niños menores de 5 años, pero con tasas en adultos y niños de 5 años o más similares (61).

El punto fuerte de nuestro estudio es que se analizó la prevalencia de SARS-CoV-2 y la respuesta de anticuerpos utilizando un gran número de núcleos familiares ubicados en un área geográfica de alta incidencia de COVID-19 durante el período de estudio. Además, el estudio se llevó a cabo bajo estricta cuarentena domiciliar que aseguró una exposición similar de todos los contactos familiares, independientemente de su edad, evitando así sesgos de evaluación de acuerdo con sus diferentes interacciones sociales fuera del domicilio.

Como se ha comentado, todos estos estudios fueron realizados al inicio de la pandemia para dar respuesta a si realmente los niños podían ser menos susceptibles que los adultos a la infección por SARS-CoV-2, o si la incidencia de la infección en la población pediátrica se subestimaba como resultado de manifestaciones clínicas leves o incluso infecciones asintomáticas.

Dado que los estudios se realizaron antes de la aparición de las diferentes variantes de SARS-CoV-2, que han comportado cambios en el comportamiento del virus, puede resultar difícil afirmar si la baja prevalencia inicial que se postulaba en la edad pediátrica fue porque se trataba de una enfermedad importada por los adultos y diseminada en ambientes adultos (vuelos, ambiente laboral...), porque los niños se protegieron de manera precoz, o porque los niños eran menos sintomáticos.

Por todo ello, un menor número de pacientes pediátricos al inicio de la pandemia no significa necesariamente que los niños sean menos susceptibles a la infección.

Con el transcurso de la pandemia, se ha ido confirmando la similar susceptibilidad a la infección por SARS-CoV-2 de la población pediátrica respecto a la adulta, objetivándose tasas de infección elevadas en niños, sobretodo coincidiendo con la aparición de la variante Ómicron (62,63).

En un estudio realizado en Alemania en marzo de 2021 (64), tras 4 meses desde que la variante B.1.1.7 (Alpha) empezó a circular en el país, se observó una susceptibilidad similar de adultos y niños a la infección por SARS-CoV-2 tanto en centros escolares como en núcleos familiares.

En otro estudio de seroprevalencia también realizado en Alemania, desde enero 2020 a junio de 2022 en población entre 0 y 17 años (59.700 participantes) se observó que la

seroprevalencia se multiplicó por cinco desde otoño de 2021 hasta junio de 2022, coincidiendo con la aparición de la variante Ómicron, llegando al 73,5% de la población (62).

También un estudio de cohortes realizado en Estados Unidos en población pediátrica menor de 5 años de edad, sugiere que la tasa de incidencia de infección por SARS-CoV-2 con la variante Ómicron fue de 6 a 8 veces mayor que la de la variante Delta, con menor frecuencia de sintomatología grave respecto a la variante Delta (63).

Por ello, tras el estudio de seroprevalencia llevado a cabo en este proyecto de investigación y los resultados de estos estudios posteriores, se responde a uno de los objetivos de la tesis, pudiendo afirmar que los niños presentan tasas de seroprevalencia similares a los adultos, lo que indica una susceptibilidad similar a la infección por SARS-CoV-2 en exposición intradomiciliaria con un adulto infectado.

Además, en el estudio de seroprevalencia llevado a cabo, se objetivó un predominio de presentaciones asintomáticas entre los niños infectados, por lo que la escasa clínica, podría justificar que la incidencia al inicio de la pandemia en base a la enfermedad evidente fuera baja en la edad pediátrica.

Si bien los adultos infectados por SARS-CoV-2 y particularmente los ancianos son propensos a experimentar una enfermedad respiratoria grave y requieren atención médica, los niños frecuentemente presentan síntomas leves o nulos que se resuelven sin intervención médica (65). De acuerdo con la literatura previa, casi todos los niños infectados en nuestro estudio eran asintomáticos o tenían presentaciones leves. No se encontró ninguna diferencia significativa en la seroprevalencia de SARS-CoV-2 entre niños con o sin síntomas respiratorios, gastrointestinales o lesiones cutáneas, lo que

confirma el reto de un diagnóstico precoz y control de la transmisión del virus en la población pediátrica.

Las infecciones respiratorias de vías bajas (IRVB) son una de las principales causas de morbilidad y mortalidad pediátricas en todo el mundo, y también causan un alto número de hospitalizaciones en países desarrollados (66). Como ya se ha mencionado y también se ha observado en nuestro estudio de seroprevalencia, la infección por SARS-CoV-2 causa una infección respiratoria mucho más leve en niños en comparación con adultos (15,19), pero la carga real de la infección por SARS-CoV-2 en niños que requieren ingreso hospitalario por IRVB durante la pandemia no había sido abordada específicamente. Por ello, llevamos a cabo un estudio con el objetivo de describir las características clínicas, epidemiológicas y microbiológicas de los niños que requirieron ingreso por una IRVB durante la primera ola pandémica en un hospital terciario pediátrico. Los resultados fueron que los niños que requirieron ingreso hospitalario estaban infectados más frecuentemente por otros microorganismos respiratorios que por SARS-CoV-2. Solo 7/110 pacientes fueron SARS-CoV-2(+), suponiendo el 6,4% de las hospitalizaciones.

La neumonía fue el principal diagnóstico clínico entre los niños con SARS-CoV-2(+), y presentaban características clínicas y radiológicas indistinguibles al ingreso hospitalario de aquellos SARS-CoV-2(-), al igual que se ha reportado en otros trabajos (67). No obstante, los dos grupos mostraron diferentes características analíticas y los pacientes con SARS-CoV-2(+) eran significativamente mayores.

Además, tras el estudio realizado, el SARS-CoV-2 no parecía ser un causante principal de bronquiolitis, en concordancia a lo reportado en otros trabajos (68). Aun y así, se había descrito en algunas series de casos de lactantes con bronquiolitis, que el SARS-CoV-2

podía ser el único microorganismo detectado (69). En nuestra serie, causó solo 1/29 episodios (3,4%). En la era pre-COVID-19, la coinfección viral en lactantes con bronquiolitis causada por coronavirus endémicos era muy común (85%) (70). Dado que la primera ola de SARS-CoV-2 en la que se realizó nuestro estudio, no coincidió con la epidemia de bronquiolitis, el comportamiento del SARS-CoV-2 en la coinfección con otros desencadenantes bien conocidos de bronquiolitis era incierto. Posteriormente a medida que ha avanzado la pandemia, se han publicado estudios en los que también se postula que la infección por SARS-CoV-2 no parece ser un desencadenante principal de bronquiolitis grave. En un estudio nacional multicéntrico publicado en 2022, incluyendo una temporada epidémica de bronquiolitis, solo 12 de 666 niños infectados por SARS-CoV-2 que requirieron ingreso hospitalario cumplieron criterios diagnósticos de bronquiolitis (1,8%) (71).

Tras el estudio llevado a cabo en el marco de este proyecto de investigación que describe las características y etiología de los niños que requirieron ingreso hospitalario por infección respiratoria de vías bajas durante la primera ola de pandemia por SARS-CoV-2, se confirma la hipótesis de que el impacto de SARS-CoV-2 sobre el número de hospitalizaciones por causa respiratoria en la población pediátrica es menor respecto a otros virus. En adultos, el SARS-CoV-2 provoca con mayor frecuencia enfermedad respiratoria grave, con necesidad de ingreso hospitalario, con importante morbimortalidad. En cambio, en la población pediátrica, otros virus respiratorios (como gripe, VRS, rinovirus...) ocasionan infección respiratoria grave en los niños de forma más habitual de lo que lo hace SARS-CoV-2.

Otro objetivo de la tesis era saber qué papel juegan los niños en la transmisión de la infección por SARS-CoV-2, ya que no estaba claro al inicio de la pandemia el potencial de los niños para actuar como transmisores de la infección por SARS-CoV-2, con estudios que mostraban tasas de transmisión más bajas en comparación a adultos (72–75) y estudios que mostraban tasas de transmisión similares (76,77).

Diversos estudios se han centrado en estudiar la transmisión de SARS-CoV-2 en los entornos escolares, debido a su cierre precoz al inicio de la pandemia y la repercusión que suponía para la población pediátrica. Dichos estudios sugieren que los niños no son los principales transmisores de la infección por SARS-CoV-2 en las escuelas (73,78), especialmente en edad preescolar. La transmisión de SARS-CoV-2 entre los niños en las escuelas es baja (79–82), y menor a lo observado previamente para otros virus respiratorios, como el virus *Influenza* (83). Esto se observó durante la primera ola de SARS-CoV-2 (84,85), aunque también se ha mantenido esta afirmación con el avance de la pandemia, como en un estudio realizado en Alemania al inicio de la segunda ola (86) o en un estudio realizado en Hong Kong después de tres olas diferentes (87). Además se ha demostrado que las medidas preventivas implementadas en las escuelas, de acuerdo con las políticas de control del virus (tales como el uso de mascarillas, higiene de manos, ventilación u otras medidas físicas), disminuyen la transmisión de SARS-CoV-2 (88,89), y han resultado exitosas en escuelas diversas, pese a diferencias socioeconómicas (90). En cambio, en escuelas situadas en zonas geográficas con alta transmisión comunitaria, sin aplicar medidas preventivas en el ámbito escolar (o escasas), se ha observado transmisión dentro de los centros educativos, aunque aparentemente se ha afectado

más el profesorado que los alumnos, y los niños mayores respecto a los más pequeños (91–93).

Paralelamente, los estudios de transmisión del virus dentro de los hogares permiten analizar tasas de transmisión en grupos definidos, estables y fáciles de seguir de casos primarios confirmados y sus contactos cercanos. En el domicilio generalmente no se toman medidas de protección por lo que la exposición es real, no mitigada por el posible uso de mascarillas o distanciamiento social. Además los estudios intradomiciliarios nos permiten comprender a su vez la transmisión comunitaria, por lo que uno de los estudios de la tesis se diseñó con este objetivo.

Con la progresión de la pandemia, se han publicado diversos estudios, donde se postula que dentro de los núcleos familiares, los niños tienen un mayor riesgo de infección en comparación con otros entornos, pero es poco probable que sean los principales transmisores de la infección en el domicilio (19,72–75,94,95), y consecuentemente tampoco tendrían un papel importante en la transmisión comunitaria (96). Un metaanálisis (97) describe que en solo el 3,8% de los núcleos familiares, un niño ha sido considerado como el caso índice dentro de la familia, y que estos casos índice pediátricos solo causaron el 4,0% (16/398) de todas las infecciones secundarias, en comparación con el 96,0% (382/398) de los casos secundarios que ocurrieron cuando un adulto era identificado como el caso índice en el núcleo familiar. Otra revisión sistemática y metaanálisis (98), también sugiere que los núcleos familiares siguen siendo la fuente más importante de transmisión de niño a adulto y de niño a niño, aunque afirma que el riesgo de transmisión de la población pediátrica es bajo, particularmente a otros niños, con un promedio de menos de un caso secundario por caso índice. Podría

atribuirse esta mayor posibilidad de infección secundaria de los casos índice pediátricos a adultos por su rol de cuidadores en el domicilio, con contactos más íntimos con el caso índice, en comparación con sus hermanos, y por la dificultad de aislamiento del caso índice pediátrico, con la necesidad de al menos un adulto en contacto con el caso índice para sus cuidados.

Otro estudio publicado por Paul et al. en 2021 (99), también observa que solo el 7% de los casos índice dentro de los núcleos familiares son niños, se observa transmisión secundaria en un 27% de los casos y se compara la infectividad de esta población por grupos de edad, destacando un mayor riesgo de transmisión entre los niños de entre 0-3 años. Esta diferencia podría deberse a los factores de comportamiento y dificultad de aislamiento comentados previamente. Pese a ello, en dos metaanálisis diferentes (97,100) no se ha observado diferencias en la transmisibilidad entre los diferentes grupos de edad dentro de la edad pediátrica.

En el estudio de transmisibilidad dentro de los núcleos familiares llevado a cabo en el marco de esta tesis, en el 50% de los núcleos familiares el caso primario era un niño, porcentaje mucho más elevado que la bibliografía al respecto, probablemente debido a que fueron los niños los que dieron origen al estudio de contactos. Nuestro estudio muestra que la tasa de ataque secundario (SAR) es mucho menor en niños que en adultos. Se observa que de los 13 núcleos familiares donde se consideró un niño como caso índice, solo en 3 de ellos (23,0%) se demostró transmisión a otros miembros de la familia, alineado con la literatura previamente comentada (99). La tasa de ataque secundario (SAR) de los casos primarios pediátricos en este estudio ha sido del 14,2%. Este valor está en el rango más bajo del SAR determinado en los domicilios, que se ha

estimado de 17,1% en un metaanálisis de 54 estudios (101). Incluso dos estudios publicados en Corea del Sur describen tasas de ataque secundarias aún más bajas sobretodo en niños pequeños, en un estudio de 5,3% en niños de 0-9 años y de 18,2% en niños de 10-19 años (102), e incluso de 0,5% en el otro estudio, aunque se excluyeron los casos índice que compartían la misma exposición inicial que los casos secundarios (103).

En la misma línea, el número de reproducción efectivo (Re) en el hogar cuando el caso índice era un niño ha sido de 0,46 en nuestro estudio. Este valor es inferior al Re determinado en un estudio de transmisión domiciliaria en Estados Unidos, que fue de alrededor de 0,9 (104).

Ambos SAR y Re han sido comparativamente más bajos en los casos índice pediátricos respecto a los adultos en nuestro estudio, de acuerdo con la literatura. Por ejemplo, un estudio multicéntrico nacional publicado en 2021 también señaló que la tasa de ataque secundaria era más baja en los domicilios con casos primarios pediátricos respecto aquellos con casos primarios adultos (59% vs. 67,6%) (105), así como también otro estudio llevado a cabo en Alemania en 150 domicilios, con SAR significativamente más bajas en los casos primarios pediátricos respecto a los adultos, 14,6% vs. 38,2% (106), y otro realizado en Holanda en 55 núcleos familiares, con SAR también más bajas en niños 35% vs. 51% (107). En nuestro estudio, el SAR de los casos primarios pediátricos fue 14,2% y el SAR de los casos primarios adultos 72,2% incluyendo los niños que dieron origen al estudio de rastreo de contactos, y 61,5% sin ellos, lo que supone un resultado sesgado ya que necesariamente ya se había detectado un caso pediátrico. Por lo tanto, un adulto ha infectado al menos a un niño. El hecho de que en nuestra población de

estudio no haya domicilios con ningún niño infectado puede haber llevado a una sobreestimación de la infectividad de los adultos como casos primarios, lo que resulta en un sesgo en estimar las tasas de ataque secundario y podría afectar a los resultados. Pese a esta posible sobreestimación, el riesgo de transmisión secundaria sigue siendo muy superior en los casos índice adultos respecto a los pediátricos.

Otros estudios han mostrado resultados diferentes. En Estados Unidos, un estudio destaca tasas similares de infección secundaria entre niños y adultos (76), otro estudio realizado en Noruega afirma que los niños pequeños infectados transmiten el virus dentro de la familia en la misma medida que los padres (108), e incluso en un estudio llevado a cabo en Wuhan en una cohorte de 27.000 domicilios, se afirma que los niños y adolescentes presentan una mayor infectividad en comparación con la población mayor de 20 años de edad (109).

Considerando que todos estos estudios también se realizaron durante el período previo a las variantes de SARS-CoV-2, la disparidad en los resultados podría estar explicada por diferentes variables del entorno, como los estilos de vida, las características principales de las casas (superficie del domicilio, número de convivientes por m², número de baños y habitaciones...), el hacinamiento en el domicilio, y también diferentes políticas de restricción de COVID-19 según el país en el momento del estudio.

La calidad del aire en espacios interiores se ha relacionado con el riesgo de transmisión del virus en entornos cerrados (110), y la guía de la Organización Mundial de la Salud ha considerado que la transmisión aérea puede ocurrir en ambientes interiores con mucha gente y mal ventilados (50).

Sin embargo, en nuestro estudio de seroprevalencia domiciliaria, no se ha encontrado asociación significativa entre la alta ocupación del domicilio, el hacinamiento, o los hábitos de tabaco de los miembros de la familia, indicativos de una calidad del aire subóptima, con la seroprevalencia domiciliaria de SARS-CoV-2. Tampoco se han encontrado diferencias significativas en cuanto a la transmisión en el estudio llevado a cabo en los núcleos familiares, no encontrándose ninguna diferencia en nuestro estudio en las características principales de las casas y en el número de individuos por superficie domiciliaria entre familias en las que otro miembro se infectó y aquellas en las que no hubo infección secundaria. Tampoco se observó un mayor riesgo de transmisión secundaria en los domicilios con mayor número de miembros o menor superficie habitable, según el estudio multicéntrico nacional comentado previamente (105).

Una posible explicación para esto podría ser que otros factores de comportamiento tales como la adherencia de los miembros de la familia a las medidas de higiene, el uso de mascarillas en el domicilio y el autoaislamiento efectivo de los casos inicialmente reportados pueden haber sido más influyentes en la minimización de la transmisión del virus en el núcleo familiar (106,111,112).

Con la progresión de la pandemia y la aparición de las diferentes variantes se han observado mayores tasas de transmisibilidad del SARS-CoV-2.

De acuerdo con la literatura, se han definido diferentes periodos de la pandemia según las diferentes variantes de SARS-CoV-2 aisladas: período Wuhan (marzo 2020-febrero 2021), período Alpha (B.1.1.7; febrero 2021-junio 2021), período Delta (B.1.617.1; junio 2021-diciembre 2021) y período Ómicron (B.1.1.529; diciembre 2021-marzo 2022). Los diferentes estudios incluidos en esta tesis doctoral, han tenido lugar durante el periodo

Wuhan, considerado el periodo pre-variante, cuando aun se desconocía la aparición posterior de las diferentes variantes.

Las diferentes variantes de SARS-CoV-2 muestran diferencias genéticas con la secuencia original del virus (5). Algunas mutaciones parecen haber surgido de manera independiente en distintas variantes lo que podría indicar que confieren alguna ventaja adaptativa. Las diferentes mutaciones presentes en las variantes pueden atribuirles un mayor impacto potencial en la salud pública a través de varios aspectos: aumento en la transmisibilidad que puede suponer un aumento en el número de casos y por lo tanto en la presión sobre el sistema asistencial, aumento en la gravedad y/o mortalidad, escape a la respuesta inmune (adquirida tras infección natural o generada por algunas vacunas y respuesta a anticuerpos monoclonales), disminución en la sensibilidad de los métodos de diagnóstico microbiológico y disminución a la respuesta al tratamiento.

Por ello, las sucesivas variantes presentan un aumento de la transmisibilidad (en relación con el SARS CoV-2 original), que es la causa de su capacidad para establecerse.

Por ejemplo, a principios de 2021, cuando la variante Alpha fue predominante, se observó una transmisibilidad aumentada del SARS-CoV-2 respecto la previa (113), sin cambios en el curso clínico de la enfermedad respecto a la cepa original (114).

La variante Delta que fue mayoritaria entre junio de 2021 y noviembre de 2021, provocó un mayor riesgo de hospitalización y mayor mortalidad. Posteriormente la variante Ómicron se ha caracterizado por una mayor transmisibilidad y una menor susceptibilidad a los anticuerpos. Esto es debido al cambio en las proteínas capsulares, lo que mejora la adherencia a los receptores ACE2 y junto con otros posibles factores

aumenta la transmisibilidad del SARS-CoV-2 (115). Pero pese al aumento de la tasa de incidencia de infección por SARS-CoV-2 observada con la variante Ómicron, esta presenta con menor frecuencia sintomatología grave respecto a la variante Delta (63). Se han observado mayores SAR tanto en niños como en adultos en contexto de esta variante. Sin embargo, no hay evidencia de que la variante Ómicron infecte preferentemente a los niños más que a otros grupos de edad (116). Un hecho destacable es que las tasas de vacunación eran más altas en la población adulta en el momento de aparición de esta nueva variante, ya que los niños accedieron a las vacunas mucho más tarde, lo que hace muy difícil sacar conclusiones sobre el papel de los niños en la transmisibilidad de esta variante.

Varios estudios atribuyen la menor transmisibilidad de SARS-CoV-2 en la población pediátrica a que los niños con mayor frecuencia son asintomáticos o presentan sintomatología leve (97,117). Concretamente un amplio estudio de cohortes publicado por Li et al. (109), describe que los individuos con infección asintomática tienen aproximadamente un 80% menos de probabilidades de infectar a otros, en comparación con los pacientes sintomáticos. También un estudio de cohortes europeo, muestra que los casos índice asintomáticos tienen menos probabilidades de transmitir el SARS-CoV-2, en comparación con los casos índice con enfermedad respiratoria aguda (118). Otro estudio también describe que los individuos asintomáticos pueden ser menos infectivos que aquellos con síntomas, y que el riesgo de transmisión de SARS-CoV-2 entre contactos cercanos aumenta según la gravedad clínica del caso índice (119). En la misma línea, en nuestro estudio, sólo 2 de los 13 casos primarios pediátricos en el núcleo familiar eran asintomáticos, pero ninguno de ellos transmitió la infección a otros

miembros de la familia. A diferencia de ello, en el estudio nacional multicéntrico comentado previamente (105), no se observaron diferencias en la SAR entre los casos índice sintomáticos y asintomáticos, ya sea en niños o adultos, aunque casi la mitad de los niños incluidos eran asintomáticos. Tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la transmisibilidad entre pacientes sintomáticos y asintomáticos en un estudio publicado en 2021, llevado a cabo en Wuhan, en 1.178 casos índice y sus 15.648 contactos (77).

Conocer la infectividad de las personas afectadas por el virus es especialmente importante para el control de la pandemia, y una de las formas de investigarlo pasa por analizar la carga viral en vías respiratorias mediante RT-PCR, debido a que una mayor carga viral sugiere una mayor tasa de transmisibilidad. En diversos estudios se ha descrito que cargas virales altas están asociadas a un aumento de la infectividad de los casos índice (120,121). El menor riesgo de transmisión en la población pediátrica puede deberse a cargas virales más bajas, aunque aún no está claro que los niños tengan cargas virales comparativamente más bajas que los adultos. Algunos estudios lo consideran aún una cuestión incierta (122), otros consideran que no hay diferencias entre la carga viral entre niños y adultos (123,124), otros afirman que la carga viral es menor en niños que adultos (125–127), incluso hay estudios en los que se ha observado niveles más altos de RNA de SARS-CoV-2 en nasofaringe de niños menores de 5 años respecto a niños más mayores o adultos (128) o se afirma que los niños pueden transportar cargas virales altas en las vías respiratorias superiores los primeros días de la infección aguda, aunque tengan síntomas leves o sean asintomáticos (129).

Relacionando la carga viral con la clínica, se ha considerado que la carga viral es más elevada en pacientes sintomáticos que asintomáticos (126), aunque también hay estudios en los que no se encuentran diferencias en la carga viral en función de los síntomas (130). Se postula que una carga viral más alta en la población pediátrica está asociada a la presencia de fiebre, exposición previa a SARS-CoV-2 y síntomas respiratorios, especialmente en lactantes, mientras que la edad, la presencia de síntomas no respiratorios, o la ausencia de cualquier sintomatología, se han asociado a una carga viral más baja (131). Los niveles de ARN de SARS-CoV-2, determinados por los valores de Ct (cycle threshold), se consideran significativamente más altos en individuos sintomáticos que en individuos asintomáticos, aun y así, como comentado previamente no queda claro si los niños podrían tener cargas virales más bajas respecto a los adultos. En un estudio publicado en JAMA realizado en Estados Unidos por Chung et al., no se encontraron diferencias significativas en la carga viral relacionadas con la edad, es decir, no se encontraron diferencias significativas en los niveles de ARN de SARS-CoV-2 entre niños asintomáticos y adultos asintomáticos ni entre niños sintomáticos y adultos sintomáticos (132). Todos estos hallazgos podrían sugerir que los niños pueden tener menos probabilidades de transmitir el SARS-CoV-2 debido a la menor frecuencia y severidad de síntomas en la población pediátrica respecto a los adultos, asociados a una posible carga viral reducida.

Relacionado con esto, en nuestro estudio no se pudo realizar el estudio de cargas virales (debido al uso de diferentes pruebas comerciales) pero se registró cuándo se produjo la negativización de la PCR en los sujetos de estudio. En 9 de los 13 casos primarios pediátricos, la PCR fue negativa una semana después del diagnóstico. De los 4 casos

restantes, con PCR persistentemente positiva más de una semana después del diagnóstico, 3 de ellos infectaron a otro familiar. Por tanto, según nuestros resultados, los pacientes con positividad prolongada de PCR se asociaron con una mayor tasa de ataque secundario.

Según algunos estudios en adultos, parece existir una relación entre la gravedad de la enfermedad y un mayor tiempo de detección de una PCR positiva (133). Sin embargo, en los estudios realizados hasta el momento, no se ha podido demostrar que una PCR persistentemente positiva se asocie con una mayor infectividad (134).

Hasta la fecha, no hay estudios publicados que analicen la relación entre la persistencia de una PCR positiva y el aumento de la infectividad en los niños. Esta observación podría ser de interés en el futuro porque el uso de antivirales se ha asociado con una eliminación viral más rápida en adultos (135). Se necesitan estudios con nuevos antivirales orales para establecer si el uso de estas terapias es seguro y efectivo para este propósito.

En relación a ello, sí que se ha afirmado en un estudio publicado en marzo de 2021, que los niños que presentan niveles más altos de anticuerpos neutralizantes, tienen cargas virales más bajas, una eliminación del virus más rápida y una infectividad in vitro menor (136). Pero se necesitarían más estudios para confirmar esta hipótesis.

Para acabar, destacar que las medidas físicas, junto con la vacunación, han sido la base del control de la transmisión comunitaria en la pandemia de COVID-19.

La higiene de manos frecuente, la distancia social, la ventilación de las estancias cerradas y el uso de mascarillas han sido las medidas físicas que parecen más efectivas para evitar los contagios.

Estas medidas preventivas no han sido exentas de efectos perjudiciales, así, a nivel de la población pediátrica, el confinamiento al inicio de la pandemia junto con el cierre precoz de las escuelas, ha supuesto efectos nocivos directos e indirectos en los niños, limitando no solo su aprendizaje académico, sino también otros beneficios más amplios, incluida la posibilidad de relacionarse y jugar con sus compañeros y aprender de sus maestros. Además las diferencias sociales se ampliaron porque no todos los hogares tienen los recursos digitales necesarios para la educación en el domicilio.

Como se ha comentado previamente, numerosos estudios objetivaron que las tasas de transmisión entre niños y adultos en entornos escolares que implementaban las medidas preventivas estrictas fueron bajas en comparación con las tasas de transmisión comunitaria. Por lo que los resultados respaldaron las políticas de apertura escolar bajo estrictas medidas preventivas, demostrando su efectividad (73,98,137).

También la vacunación frente al SARS-CoV-2 ha supuesto un pilar en la prevención, siendo una medida instaurada en las políticas de salud pública.

La vacunación es la medida más efectiva para combatir la pandemia actual. Las medidas no farmacológicas (como son el distanciamiento físico y las medidas de higiene respiratoria y de contacto) contribuyen al control de la diseminación de la infección, pero algunas de ellas no se pueden mantener de forma indefinida sin que se afecte la normalidad deseada.

La vacunación ha marcado un punto de inflexión en la pandemia, demostrando una elevada efectividad en la prevención de formas graves de COVID-19, fundamentalmente

reduciendo hospitalizaciones y muertes asociadas a la infección, pero también logrando cierto impacto en la transmisión.

El desarrollo de la investigación para tener disponibles vacunas para proteger a la población ha tenido un curso acelerado en el que la investigación de las vacunas adaptadas a la población infantil no fue prioritaria dado el impacto menor que la infección tiene en el niño.

Pese a ello, no se dispuso de vacunas hasta dos años después de los estudios que conforman la presente tesis, por lo que conocer la contribución de los niños en la transmisión del SARS-CoV-2 durante los primeros meses de pandemia, era de elevada importancia de cara a la implementación de las medidas de control para la salud pública.

Por último se exponen a continuación, las limitaciones de los diferentes estudios que conforman la tesis.

1. Limitaciones del estudio de seroprevalencia

Una limitación del estudio de seroprevalencia fue la sensibilidad del test serológico capilar rápido por inmunocromatografía (LFA), así como el número reducido de clases de anticuerpos que determina la prueba. No obstante, se ha considerado que cualquier potencial sesgo derivado de la sensibilidad subóptima de la prueba afecta de manera significativa la identificación de contactos de niños y adultos infectados en la misma medida.

Una segunda limitación del estudio de seroprevalencia que derivó del diseño transversal fue la imposibilidad de discernir si los casos identificados inicialmente como positivos eran realmente los primeros dentro del núcleo familiar en infectarse. El tiempo

transcurrido entre la RT-PCR positiva y el LFA rápido (rango, 17–82 días) y la evidencia del período medio de incubación del SARS-CoV-2 (alrededor de 4–6 días con un 95% de las personas que presentan síntomas dentro de los 12 días) (138) apuntan hacia la posibilidad de que los primeros casos notificados fueran los primeros infectados en sus núcleos familiares.

2. Limitaciones del estudio de transmisibilidad en los núcleos familiares

En cuanto al estudio de transmisión dentro de los núcleos familiares, tiene varias limitaciones, como el limitado número de núcleos familiares estudiados y el bajo número de casos de niños considerados casos primarios en el domicilio.

Según el diseño del estudio, dado que el criterio de inclusión era ser un niño con infección confirmada por SARS-CoV-2, esto implica que todos los adultos considerados caso primario dentro del domicilio forzosamente han contagiado a un niño, por lo que podría haber conducido a una sobreestimación de la infectividad de los adultos como casos primarios.

Además, cuando en la misma unidad familiar había más de una persona infectada, es difícil determinar quién ha contagiado a quién. Igualmente, tampoco se pudo confirmar si la infección secundaria se produjo dentro del núcleo familiar, ya que en el periodo de estudio no había confinamiento domiciliario (a diferencia del estudio de seroprevalencia), aunque cabe decir que el estudio se realizó en un momento en que se requerían mascarillas fuera del domicilio y había restricciones sociales.

Otra limitación fue que no se pudo definir un caso primario único cuando dos miembros del mismo núcleo familiar comenzaron los síntomas con 1 a 2 días de diferencia. De hecho, estos casos se reportaron como casos primarios indeterminados.

Por último, se decidió utilizar serologías rápidas en contactos familiares pediátricos, para evitar la venopunción en niños. La menor sensibilidad de este método puede haber pasado por alto algunas infecciones. Esta posible clasificación errónea de los resultados puede haber afectado en el rol relativo de niños y adultos en la transmisión de la infección en los núcleos familiares.

3. Limitaciones del estudio de las hospitalizaciones por infección respiratoria de vías bajas durante la primera ola de la pandemia

La principal limitación del estudio descriptivo sobre las características y etiología de los niños que requirieron ingreso hospitalario por infección respiratoria de vías bajas durante la primera ola de pandemia por SARS-CoV-2, fue su diseño observacional, ya que se realizaron pruebas heterogéneas en cada paciente dependiendo de su condición clínica y del contexto epidemiológico en ese momento. La mayoría de los pacientes con enfermedad de vías respiratorias bajas tenían fiebre (73/103), por lo que se asume una probable infección viral. Por otra parte, una tasa baja de pacientes fue testada con la PCR para múltiples patógenos por falta de disponibilidad de la muestra. Por ello, y por el número bajo de pacientes respiratorios por SARS-CoV-2(+), la ausencia de significación estadística en algunas variables puede no ser concluyente.

6. CONCLUSIONES

1. Los niños tienen una probabilidad similar a los adultos de infectarse por Coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo 2 (SARS-CoV-2) en hogares familiares bajo estricta cuarentena domiciliaria.
2. La seroprevalencia de la infección por SARS-CoV-2 en niños es igual a la de los adultos convivientes con un primer caso adulto notificado con reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa en tiempo real (RT-PCR) positiva en condiciones de confinamiento domiciliario.
3. Los niños, a diferencia de los adultos, permanecen mayoritariamente asintomáticos una vez infectados, o presentan sintomatología leve.
4. La contribución de la población pediátrica en la transmisibilidad del SARS-CoV-2 es menor respecto a la población adulta en los hogares familiares.
5. La tasa de ataque secundario (SAR) es mucho más baja en niños que en adultos.
6. La persistencia de RT-PCR SARS-CoV-2 positiva después de una semana del diagnóstico se asocia con una mayor tasa de transmisión en el domicilio.
7. La mayoría de los episodios de infección respiratoria de vías bajas que requirieron hospitalización en un hospital terciario pediátrico durante la primera ola pandémica y bajo estrictas medidas de confinamiento en la población, no se relacionaron con la infección por SARS-CoV-2.
8. El SARS-CoV-2 causa principalmente neumonía en niños mayores/adolescentes, mientras que el impacto de la infección por SARS-CoV-2 entre las hospitalizaciones por infección respiratoria de vías bajas es bajo en niños pequeños.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Paules CI, Marston HD, Fauci AS. Coronavirus Infections—More Than Just the Common Cold. *JAMA*. 2020 Feb 25;323(8):707.
2. Kimberlin DW, Brady MT, Jackson MA, Long SS eds. *Red Book: 2018 Report of the Committee on Infectious Diseases*. 31st ed. American Academy of Pediatrics;
3. World Health Organization (WHO). Department of Communicable Disease Surveillance and Response. Consensus document on the epidemiology of severe acute respiratory syndrome (SARS) [Internet]. 2003 [cited 2023 Mar 16]. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/70863>
4. World Health Organization (WHO). Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV), MERS Monthly Summary. 2019.
5. Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias Sanitarias. Ministerio de Sanidad. Información microbiológica acerca de SARS-CoV-2 [Internet]. 2022 [cited 2023 Mar 16]. Available from: https://www.sanidad.gob.es/profesionales/saludPublica/ccayes/alertasActual/nCov/documentos/20220113_MICROBIOLOGIA.pdf
6. Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China. Summary of a Report of 72 314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA*. 2020 Apr 7;323(13):1239.
7. Yesudhas D, Srivastava A, Gromiha MM. COVID-19 outbreak: history, mechanism, transmission, structural studies and therapeutics. *Infection*. 2021 Apr 4;49(2):199–213.
8. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *New England Journal of Medicine*. 2020 Feb 20;382(8):727–33.
9. Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol*. 2019 Mar 10;17(3):181–92.
10. Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *The Lancet*. 2020 Feb;395(10224):565–74.

11. Hu B, Guo H, Zhou P, Shi ZL. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat Rev Microbiol.* 2021 Mar 6;19(3):141–54.
12. Petrosillo N, Viceconte G, Ergonul O, Ippolito G, Petersen E. COVID-19, SARS and MERS: are they closely related? *Clinical Microbiology and Infection.* 2020 Jun;26(6):729–34.
13. World Health Organization (WHO). COVID-19 Dashboard [Internet]. [cited 2023 Mar 16]. Available from: <https://covid19.who.int/>
14. World Health Organization. Report of the WHO-China Joint Mission on Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). Available online: <https://www.who.int/docs/defaultsource/coronaviruse/who-china-joint-mission-on-covid-19-final-report.pdf>. 2020 Feb.
15. Cevik M, Bamford CGG, Ho A. COVID-19 pandemic—a focused review for clinicians. *Clinical Microbiology and Infection.* 2020 Jul;26(7):842–7.
16. Musa OAH, Chivese T, Bansal D, Abdulmajeed J, Ameen O, Islam N, et al. Prevalence and determinants of symptomatic COVID-19 infection among children and adolescents in Qatar: a cross-sectional analysis of 11 445 individuals. *Epidemiol Infect.* 2021 Jul 2;149:e193.
17. Hua C, Miao Z, Zheng J, Huang Q, Sun Q, Lu H, et al. Epidemiological features and viral shedding in children with SARS-CoV-2 infection. *J Med Virol.* 2020 Nov 11;92(11):2804–12.
18. Xiong X, Chua GT, Chi S, Kwan MYW, Sang Wong WH, Zhou A, et al. A Comparison Between Chinese Children Infected with Coronavirus Disease-2019 and with Severe Acute Respiratory Syndrome 2003. *J Pediatr.* 2020 Sep;224:30–6.
19. Chen Z, Tong L, Zhou Y, Hua C, Wang W, Fu J, et al. Childhood COVID-19: a multicentre retrospective study. *Clinical Microbiology and Infection.* 2020 Sep;26(9):1260.e1-1260.e4.
20. Lu X, Zhang L, Du H, Zhang J, Li YY, Qu J, et al. SARS-CoV-2 Infection in Children. *New England Journal of Medicine.* 2020 Apr 23;382(17):1663–5.

21. Parri N, Lenge M, Buonsenso D. Children with Covid-19 in Pediatric Emergency Departments in Italy. *New England Journal of Medicine*. 2020 Jul 9;383(2):187–90.
22. Göttinger F, Santiago-García B, Noguera-Julián A, Lanaspá M, Lancella L, Calò Carducci FI, et al. COVID-19 in children and adolescents in Europe: a multinational, multicentre cohort study. *Lancet Child Adolesc Health*. 2020 Sep;4(9):653–61.
23. Capone CA, Subramony A, Sweberg T, Schneider J, Shah S, Rubin L, et al. Characteristics, Cardiac Involvement, and Outcomes of Multisystem Inflammatory Syndrome of Childhood Associated with severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 Infection. *J Pediatr*. 2020 Sep;224:141–5.
24. Niño-Taravilla C, Otaola-Arca H, Lara-Aguilera N, Zuleta-Morales Y, Ortiz-Fritz P. Multisystem Inflammatory Syndrome in Children, Chile, May–August 2020. *Emerg Infect Dis*. 2021 May;27(5):1457–61.
25. Ahmed M, Advani S, Moreira A, Zoretic S, Martinez J, Chorath K, et al. Multisystem inflammatory syndrome in children: A systematic review. *EClinicalMedicine*. 2020 Sep;26:100527.
26. Tagarro A, Cobos-Carrascosa E, Villaverde S, Sanz-Santaefemia FJ, Grasa C, Soriano-Arandes A, et al. Clinical spectrum of COVID-19 and risk factors associated with severity in Spanish children. *Eur J Pediatr*. 2022 Mar 5;181(3):1105–15.
27. DeBiasi RL, Song X, Delaney M, Bell M, Smith K, Pershad J, et al. Severe Coronavirus Disease-2019 in Children and Young Adults in the Washington, DC, Metropolitan Region. *J Pediatr*. 2020 Aug;223:199-203.e1.
28. Swann O V., Holden KA, Turtle L, Pollock L, Fairfield CJ, Drake TM, et al. Clinical characteristics of children and young people admitted to hospital with covid-19 in United Kingdom: Prospective multicentre observational cohort study. *The BMJ*. 2020 Aug 27;370.
29. González Cortés R, García-Salido A, Roca Pascual D, Slöcker Barrio M, de Carlos Vicente JC, Slöcker Barrio M, et al. A multicenter national survey of children with

- SARS-CoV-2 infection admitted to Spanish Pediatric Intensive Care Units. *Intensive Care Med.* 2020 Sep 22;46(9):1774–6.
30. Williams PCM, Howard-Jones AR, Hsu P, Palasanthiran P, Gray PE, McMullan BJ, et al. SARS-CoV-2 in children: spectrum of disease, transmission and immunopathological underpinnings. *Pathology.* 2020 Dec;52(7):801–8.
 31. Harwood R, Yan H, Talawila Da Camara N, Smith C, Ward J, Tudur-Smith C, et al. Which children and young people are at higher risk of severe disease and death after hospitalisation with SARS-CoV-2 infection in children and young people: A systematic review and individual patient meta-analysis. *EClinicalMedicine.* 2022 Feb;44:101287.
 32. Graff K, Smith C, Silveira L, Jung S, Curran-Hays S, Jarjour J, et al. Risk Factors for Severe COVID-19 in Children. *Pediatric Infectious Disease Journal.* 2021 Apr 1;40(4):e137–45.
 33. Shi Q, Wang Z, Liu J, Wang X, Zhou Q, Li Q, et al. Risk factors for poor prognosis in children and adolescents with COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *EClinicalMedicine.* 2021 Nov;41:101155.
 34. Lanari M, Chierighin A, Biserni GB, Rocca A, Re MC, Lazzarotto T. Children and SARS-CoV-2 infection: innocent bystanders...until proven otherwise. *Clinical Microbiology and Infection.* 2020 Sep;26(9):1130–2.
 35. Steinman JB, Lum FM, Ho PPK, Kaminski N, Steinman L. Reduced development of COVID-19 in children reveals molecular checkpoints gating pathogenesis illuminating potential therapeutics. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2020 Oct 6;117(40):24620–6.
 36. de Lusignan S, Dorward J, Correa A, Jones N, Akinyemi O, Amirthalingam G, et al. Risk factors for SARS-CoV-2 among patients in the Oxford Royal College of General Practitioners Research and Surveillance Centre primary care network: a cross-sectional study. *Lancet Infect Dis.* 2020 Sep;20(9):1034–42.
 37. Patel AB, Verma A. Nasal ACE2 Levels and COVID-19 in Children. *JAMA.* 2020 Jun 16;323(23):2386.

38. World Health Organization (WHO). Household investigation protocol for coronavirus disease 2019 (COVID-19) [Internet]. 2020 [cited 2023 Mar 16]. Available from: [https://www.who.int/publications/i/item/household-transmission-investigation-protocol-for-2019-novel-coronavirus-\(2019-ncov\)-infection](https://www.who.int/publications/i/item/household-transmission-investigation-protocol-for-2019-novel-coronavirus-(2019-ncov)-infection)
39. Pollán M, Pérez-Gómez B, Pastor-Barriuso R, Oteo J, Hernán MA, Pérez-Olmeda M, et al. Prevalence of SARS-CoV-2 in Spain (ENE-COVID): a nationwide, population-based seroepidemiological study. *The Lancet*. 2020 Aug;396(10250):535–44.
40. Gudbjartsson DF, Helgason A, Jonsson H, Magnusson OT, Melsted P, Norddahl GL, et al. Spread of SARS-CoV-2 in the Icelandic Population. *New England Journal of Medicine*. 2020 Jun 11;382(24):2302–15.
41. Stringhini S, Wisniak A, Piumatti G, Azman AS, Lauer SA, Baysson H, et al. Seroprevalence of anti-SARS-CoV-2 IgG antibodies in Geneva, Switzerland (SEROCoV-POP): a population-based study. *The Lancet*. 2020 Aug;396(10247):313–9.
42. Lavezzo E, Franchin E, Ciavarella C, Cuomo-Dannenburg G, Barzon L, Del Vecchio C, et al. Suppression of a SARS-CoV-2 outbreak in the Italian municipality of Vo'. *Nature*. 2020 Aug 20;584(7821):425–9.
43. Cheng HY, Jian SW, Liu DP, Ng TC, Huang WT, Lin HH. Contact Tracing Assessment of COVID-19 Transmission Dynamics in Taiwan and Risk at Different Exposure Periods Before and After Symptom Onset. *JAMA Intern Med*. 2020 Sep 1;180(9):1156.
44. Pagani G, Conti F, Giacomelli A, Bernacchia D, Rondanin R, Prina A, et al. Seroprevalence of SARS-CoV-2 significantly varies with age: Preliminary results from a mass population screening. *Journal of Infection*. 2020 Dec;81(6):e10–2.
45. Bi Q, Wu Y, Mei S, Ye C, Zou X, Zhang Z, et al. Epidemiology and transmission of COVID-19 in 391 cases and 1286 of their close contacts in Shenzhen, China: a retrospective cohort study. *Lancet Infect Dis*. 2020 Aug;20(8):911–9.

46. Bunyavanich S, Do A, Vicencio A. Nasal Gene Expression of Angiotensin-Converting Enzyme 2 in Children and Adults. *JAMA*. 2020 Jun 16;323(23):2427.
47. Lee PI, Hu YL, Chen PY, Huang YC, Hsueh PR. Are children less susceptible to COVID-19? *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. 2020 Jun;53(3):371–2.
48. Choe PG, Perera RAPM, Park WB, Song KH, Bang JH, Kim ES, et al. MERS-CoV Antibody Responses 1 Year after Symptom Onset, South Korea, 2015. *Emerg Infect Dis*. 2017 Jul;23(7):1079–84.
49. Mehta NS, Mytton OT, Mullins EWS, Fowler TA, Falconer CL, Murphy OB, et al. SARS-CoV-2 (COVID-19): What Do We Know About Children? A Systematic Review. *Clinical Infectious Diseases*. 2020 Dec 3;71(9):2469–79.
50. World Health Organization (WHO). Vías de transmisión del virus de la COVID-19: repercusiones para las recomendaciones relativas a las precauciones en materia de prevención y control de las infecciones [Internet]. 2020 [cited 2023 Mar 16]. Available from: <https://www.who.int/es/news-room/commentaries/detail/modes-oftransmission-of-virus-causing-covid-19-implications-for-ipc-precaution-recommendations>
51. Alcamí A, Del Val M, Hernán M, Latassa P, Jiménez JL, Querol X, et al. Informe científico sobre vías de transmisión del SARS-CoV-2 [Internet]. Ministerio de Sanidad. Gobierno de España; [cited 2023 Mar 16]. Available from: <https://www.ciencia.gob.es/portal/site/MICINN/menuitem.edc7f2029a2be27d7010721001432ea0/?vgnextoid=673bb7e72db>
52. CDC. National Center for Immunization and Respiratory Diseases (NCIRD) D of VD. Scientific Brief: SARS-CoV-2 and Potential Airborne Transmission . 2020; Available from: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/more/scientific-brief-sars-cov-2.html>
53. De Ioris MA, Scarselli A, Ciofi degli Atti ML, Ravà L, Smarrazzo A, Concato C, et al. Dynamic Viral Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 RNA Shedding in Children: Preliminary Data and Clinical Consideration from a Italian Regional Center. *J Pediatric Infect Dis Soc*. 2020 Jul 13;9(3):366–9.

54. Xu Y, Li X, Zhu B, Liang H, Fang C, Gong Y, et al. Characteristics of pediatric SARS-CoV-2 infection and potential evidence for persistent fecal viral shedding. *Nat Med*. 2020 Apr 13;26(4):502–5.
55. He X, Lau EHY, Wu P, Deng X, Wang J, Hao X, et al. Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nat Med*. 2020 May 1;26(5):672–5.
56. Qiu X, Nergiz AI, Maraolo AE, Bogoch II, Low N, Cevik M. The role of asymptomatic and pre-symptomatic infection in SARS-CoV-2 transmission—a living systematic review. *Clinical Microbiology and Infection*. 2021 Apr;27(4):511–9.
57. Viner RM, Mytton OT, Bonell C, Melendez-Torres GJ, Ward J, Hudson L, et al. Susceptibility to SARS-CoV-2 Infection Among Children and Adolescents Compared With Adults: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Pediatr*. 2021 Feb 1;175(2):143–56.
58. Li W, Zhang B, Lu J, Liu S, Chang Z, Peng C, et al. Characteristics of Household Transmission of COVID-19. *Clinical Infectious Diseases*. 2020 Nov 5;71(8):1943–6.
59. Wang Z, Ma W, Zheng X, Wu G, Zhang R. Household transmission of SARS-CoV-2. *Journal of Infection*. 2020 Jul;81(1):179–82.
60. Rosenberg ES, Dufort EM, Blog DS, Hall EW, Hoefler D, Backenson BP, et al. COVID-19 Testing, Epidemic Features, Hospital Outcomes, and Household Prevalence, New York State—March 2020. *Clinical Infectious Diseases*. 2020 Nov 5;71(8):1953–9.
61. Smith BK, Janowski AB, Danis JE, Harvey IB, Zhao H, Dai YN, et al. Seroprevalence of SARS-CoV-2 Antibodies in Children and Adults in St. Louis, Missouri, USA. *mSphere*. 2021 Feb 24;6(1).
62. Ott R, Achenbach P, Ewald DA, Friedl N, Gemulla G, Hubmann M, et al. SARS-CoV-2 seroprevalence in preschool and school-age children. *Dtsch Arztebl Int*. 2022 Nov 11;119:765–70.
63. Wang L, Berger NA, Kaelber DC, Davis PB, Volkow ND, Xu R. Incidence Rates and Clinical Outcomes of SARS-CoV-2 Infection With the Omicron and Delta Variants in Children Younger Than 5 Years in the US. *JAMA Pediatr*. 2022 Aug 1;176(8):811.

64. Loenenbach A, Markus I, Lehfeld AS, an der Heiden M, Haas W, Kiegele M, et al. SARS-CoV-2 variant B.1.1.7 susceptibility and infectiousness of children and adults deduced from investigations of childcare centre outbreaks, Germany, 2021. *Eurosurveillance*. 2021 May 27;26(21).
65. Dong Y, Mo X, Hu Y, Qi X, Jiang F, Jiang Z, et al. Epidemiology of COVID-19 Among Children in China. *Pediatrics*. 2020 Jun 1;145(6).
66. Sinaniotis CA. Viral pneumoniae in children: incidence and aetiology. *Paediatr Respir Rev*. 2004 Jan;5:S197–200.
67. Katal S, Johnston SK, Johnston JH, Gholamrezanezhad A. Imaging Findings of SARS-CoV-2 Infection in Pediatrics: A Systematic Review of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in 850 Patients. *Acad Radiol*. 2020 Nov;27(11):1608–21.
68. Zhang B, Liu S, Zhang J, Xiao J, Zhu S, Dong Y, et al. Children hospitalized for coronavirus disease 2019 (COVID-19): A multicenter retrospective descriptive study. *Journal of Infection*. 2020 Aug;81(2):e74–5.
69. Grimaud E, Challiol M, Guilbaud C, Delestrain C, Madhi F, Ngo J, et al. Delayed acute bronchiolitis in infants hospitalized for COVID-19. *Pediatr Pulmonol*. 2020 Sep 10;55(9):2211–2.
70. Mansbach JM, Hasegawa K, Piedra PA, Sullivan AF, Camargo CA. Severe Coronavirus Bronchiolitis in the Pre-COVID-19 Era. *Pediatrics*. 2020 Sep;146(3).
71. Andina-Martinez D, Alonso-Cadenas JA, Cobos-Carrascosa E, Bodegas I, Oltra-Benavent M, Plazaola A, et al. SARS-CoV-2 acute bronchiolitis in hospitalized children: Neither frequent nor more severe. *Pediatr Pulmonol*. 2022 Jan 25;57(1):57–65.
72. Wood R, Thomson E, Galbraith R, Gribben C, Caldwell D, Bishop J, et al. Sharing a household with children and risk of COVID-19: a study of over 300 000 adults living in healthcare worker households in Scotland. *Arch Dis Child*. 2021 Dec;106(12):1212–7.
73. Jordan I, Fernandez de Sevilla M, Fumado V, Bassat Q, Bonet-Carne E, Fortuny C, et al. Transmission of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection

- Among Children in Summer Schools Applying Stringent Control Measures in Barcelona, Spain. *Clinical Infectious Diseases*. 2022 Jan 7;74(1):66–73.
74. Munro APS, Faust SN. Children are not COVID-19 super spreaders: time to go back to school. *Arch Dis Child*. 2020 Jul;105(7):618–9.
 75. Ludvigsson JF. Children are unlikely to be the main drivers of the COVID-19 pandemic – A systematic review. *Acta Paediatr*. 2020 Aug 17;109(8):1525–30.
 76. Laws RL, Chancey RJ, Rabold EM, Chu VT, Lewis NM, Fajans M, et al. Symptoms and Transmission of SARS-CoV-2 Among Children — Utah and Wisconsin, March–May 2020. *Pediatrics*. 2021 Jan 1;147(1).
 77. Hu S, Wang W, Wang Y, Litvinova M, Luo K, Ren L, et al. Infectivity, susceptibility, and risk factors associated with SARS-CoV-2 transmission under intensive contact tracing in Hunan, China. *Nat Commun*. 2021 Mar 9;12(1):1533.
 78. Heavey L, Casey G, Kelly C, Kelly D, McDarby G. No evidence of secondary transmission of COVID-19 from children attending school in Ireland, 2020. *Eurosurveillance*. 2020 May 28;25(21).
 79. Hershov RB, Wu K, Lewis NM, Milne AT, Currie D, Smith AR, et al. Low SARS-CoV-2 Transmission in Elementary Schools — Salt Lake County, Utah, December 3, 2020–January 31, 2021. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2021 Mar 26;70(12):442–8.
 80. Doyle T, Kendrick K, Troelstrup T, Gumke M, Edwards J, Chapman S, et al. COVID-19 in Primary and Secondary School Settings During the First Semester of School Reopening — Florida, August–December 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2021 Mar 26;70(12):437–41.
 81. Doron S, Ingalls RR, Beauchamp A, Boehm JS, Boucher HW, Chow LH, et al. Weekly SARS-CoV-2 screening of asymptomatic kindergarten to grade 12 students and staff helps inform strategies for safer in-person learning. *Cell Rep Med*. 2021 Nov;2(11):100452.
 82. Ismail SA, Saliba V, Lopez Bernal J, Ramsay ME, Ladhani SN. SARS-CoV-2 infection and transmission in educational settings: a prospective, cross-sectional analysis

- of infection clusters and outbreaks in England. *Lancet Infect Dis*. 2021 Mar;21(3):344–53.
83. Yung CF, Kam K qian, Nadua KD, Chong CY, Tan NWH, Li J, et al. Novel Coronavirus 2019 Transmission Risk in Educational Settings. *Clinical Infectious Diseases*. 2021 Mar 15;72(6):1055–8.
84. Ladhani SN, Baawuah F, Beckmann J, Okike IO, Ahmad S, Garstang J, et al. SARS-CoV-2 infection and transmission in primary schools in England in June–December, 2020 (sKIDs): an active, prospective surveillance study. *Lancet Child Adolesc Health*. 2021 Jun;5(6):417–27.
85. Macartney K, Quinn HE, Pillsbury AJ, Koirala A, Deng L, Winkler N, et al. Transmission of SARS-CoV-2 in Australian educational settings: a prospective cohort study. *Lancet Child Adolesc Health*. 2020 Nov;4(11):807–16.
86. Thielecke M, Theuring S, van Loon W, Hommes F, Mall MA, Rosen A, et al. SARS-CoV-2 infections in kindergartens and associated households at the start of the second wave in Berlin, Germany—a cross-sectional study. *Eur J Public Health*. 2021 Oct 26;31(5):1105–7.
87. Chua GT, Wong JSC, Lam I, Ho PPK, Chan WH, Yau FYS, et al. Clinical Characteristics and Transmission of COVID-19 in Children and Youths During 3 Waves of Outbreaks in Hong Kong. *JAMA Netw Open*. 2021 May 3;4(5):e218824.
88. Volpp KG, Kraut BH, Ghosh S, Neatherlin J. Minimal SARS-CoV-2 Transmission After Implementation of a Comprehensive Mitigation Strategy at a School — New Jersey, August 20–November 27, 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2021 Mar 19;70(11):377–81.
89. Goldstein E, Lipsitch M, Cevik M. On the Effect of Age on the Transmission of SARS-CoV-2 in Households, Schools, and the Community. *J Infect Dis*. 2021 Feb 13;223(3):362–9.
90. Cooper DM, Zulu MZ, Jankeel A, Ibraim IC, Ardo J, Kasper K, et al. SARS-CoV-2 acquisition and immune pathogenesis among school-aged learners in four diverse schools. *Pediatr Res*. 2021 Nov 24;90(5):1073–80.

91. Fontanet A, Tondeur L, Grant R, Temmam S, Madec Y, Bigot T, et al. SARS-CoV-2 infection in schools in a northern French city: a retrospective serological cohort study in an area of high transmission, France, January to April 2020. *Eurosurveillance*. 2021 Apr 15;26(15).
92. Torres JP, Piñera C, De La Maza V, Lagomarcino AJ, Simian D, Torres B, et al. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Antibody Prevalence in Blood in a Large School Community Subject to a Coronavirus Disease 2019 Outbreak: A Cross-sectional Study. *Clinical Infectious Diseases*. 2021 Jul 15;73(2):e458–65.
93. Stein-Zamir C, Abramson N, Shoob H, Libal E, Bitan M, Cardash T, et al. A large COVID-19 outbreak in a high school 10 days after schools' reopening, Israel, May 2020. *Eurosurveillance*. 2020 Jul 23;25(29).
94. Somekh E, Gleyzer A, Heller E, Lopian M, Kashani-Ligumski L, Czeiger S, et al. The Role of Children in the Dynamics of Intra Family Coronavirus 2019 Spread in Densely Populated Area. *Pediatric Infectious Disease Journal*. 2020 Aug 12;39(8):e202–4.
95. Lugon P, Fuller T, Damasceno L, Calvet G, Resende PC, Matos AR, et al. SARS-CoV-2 Infection Dynamics in Children and Household Contacts in a Slum in Rio de Janeiro. *Pediatrics*. 2021 Jul 1;148(1).
96. Lu L, Koh CT, Lim YH, Sng A, Poon KS, Tan SSY, et al. Role of Asymptomatic Children in Community Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Transmission. *J Infect Dis*. 2021 May 28;223(10):1834–6.
97. Zhu Y, Bloxham CJ, Hulme KD, Sinclair JE, Tong ZWM, Steele LE, et al. A Meta-analysis on the Role of Children in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 in Household Transmission Clusters. *Clinical Infectious Diseases*. 2021 Jun 15;72(12):e1146–53.
98. Silverberg SL, Zhang BY, Li SNJ, Burgert C, Shulha HP, Kitchin V, et al. Child transmission of SARS-CoV-2: a systematic review and meta-analysis. *BMC Pediatr*. 2022 Apr 2;22(1):172.

99. Paul LA, Daneman N, Schwartz KL, Science M, Brown KA, Whelan M, et al. Association of Age and Pediatric Household Transmission of SARS-CoV-2 Infection. *JAMA Pediatr.* 2021 Nov 1;175(11):1151.
100. Thompson HA, Mousa A, Dighe A, Fu H, Arnedo-Pena A, Barrett P, et al. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Setting-specific Transmission Rates: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clinical Infectious Diseases.* 2021 Aug 2;73(3):e754–64.
101. Madewell ZJ, Yang Y, Longini IM, Halloran ME, Dean NE. Household Transmission of SARS-CoV-2. *JAMA Netw Open.* 2020 Dec 14;3(12):e2031756.
102. Park YJ, Choe YJ, Park O, Park SY, Kim YM, Kim J, et al. Contact Tracing during Coronavirus Disease Outbreak, South Korea, 2020. *Emerg Infect Dis.* 2020 Oct;26(10):2465–8.
103. Kim J, Choe YJ, Lee J, Park YJ, Park O, Han MS, et al. Role of children in household transmission of COVID-19. *Arch Dis Child.* 2021 Jul;106(7):709–11.
104. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Cases & Data: COVID-19 Weekly Cases and Deaths per 100,000 Population by Age, Race/Ethnicity, and Sex.
105. Soriano-Arandes A, Gatell A, Serrano P, Biosca M, Campillo F, Capdevila R, et al. Household Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Transmission and Children: A Network Prospective Study. *Clinical Infectious Diseases.* 2021 Sep 15;73(6):e1261–9.
106. Galow L, Haag L, Kahre E, Blankenburg J, Dalpke AH, Lück C, et al. Lower household transmission rates of SARS-CoV-2 from children compared to adults. *Journal of Infection.* 2021 Jul;83(1):e34–6.
107. Reukers DFM, van Boven M, Meijer A, Rots N, Reusken C, Roof I, et al. High Infection Secondary Attack Rates of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 in Dutch Households Revealed by Dense Sampling. *Clinical Infectious Diseases.* 2022 Jan 7;74(1):52–8.
108. Telle K, Jørgensen SB, Hart R, Greve-Isdahl M, Kacelnik O. Secondary attack rates of COVID-19 in Norwegian families: a nation-wide register-based study. *Eur J Epidemiol.* 2021 Jul 25;36(7):741–8.

109. Li F, Li YY, Liu MJ, Fang LQ, Dean NE, Wong GWK, et al. Household transmission of SARS-CoV-2 and risk factors for susceptibility and infectivity in Wuhan: a retrospective observational study. *Lancet Infect Dis.* 2021 May;21(5):617–28.
110. Lu J, Gu J, Li K, Xu C, Su W, Lai Z, et al. COVID-19 Outbreak Associated with Air Conditioning in Restaurant, Guangzhou, China, 2020. *Emerg Infect Dis.* 2020 Jul;26(7):1628–31.
111. Wu J, Huang Y, Tu C, Bi C, Chen Z, Luo L, et al. Household Transmission of SARS-CoV-2, Zhuhai, China, 2020. *Clinical Infectious Diseases.* 2020 Nov 19;71(16):2099–108.
112. Wang Y, Tian H, Zhang L, Zhang M, Guo D, Wu W, et al. Reduction of secondary transmission of SARS-CoV-2 in households by face mask use, disinfection and social distancing: a cohort study in Beijing, China. *BMJ Glob Health.* 2020 May 28;5(5):e002794.
113. Lyngse FP, Mølbak K, Skov RL, Christiansen LE, Mortensen LH, Albertsen M, et al. Increased transmissibility of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 by age and viral load. *Nat Commun.* 2021 Dec 13;12(1):7251.
114. Brookman S, Cook J, Zucherman M, Broughton S, Harman K, Gupta A. Effect of the new SARS-CoV-2 variant B.1.1.7 on children and young people. *Lancet Child Adolesc Health.* 2021 Apr;5(4):e9–10.
115. Prü BM. Variants of SARS CoV-2: mutations, transmissibility, virulence, drug resistance, and antibody/vaccine sensitivity. *Frontiers in Bioscience-Landmark.* 2022 Feb 14;27(2):065.
116. Jørgensen SB, Nygård K, Kacelnik O, Telle K. Secondary Attack Rates for Omicron and Delta Variants of SARS-CoV-2 in Norwegian Households. *JAMA.* 2022 Apr 26;327(16):1610.
117. Kelvin AA, Halperin S. COVID-19 in children: the link in the transmission chain. *Lancet Infect Dis.* 2020 Jun;20(6):633–4.
118. Verberk JDM, de Hoog MLA, Westerhof I, van Goethem S, Lammens C, Ieven G, et al. Transmission of SARS-CoV-2 within households: a remote prospective cohort study in European countries. *Eur J Epidemiol.* 2022 May 28;37(5):549–61.

119. Luo L, Liu D, Liao X, Wu X, Jing Q, Zheng J, et al. Contact Settings and Risk for Transmission in 3410 Close Contacts of Patients With COVID-19 in Guangzhou, China. *Ann Intern Med*. 2020 Dec 1;173(11):879–87.
120. Marks M, Millat-Martinez P, Ouchi D, Roberts C h, Alemany A, Corbacho-Monné M, et al. Transmission of COVID-19 in 282 clusters in Catalonia, Spain: a cohort study. *Lancet Infect Dis*. 2021 May;21(5):629–36.
121. Cerami C, Popkin-Hall ZR, Rapp T, Tompkins K, Zhang H, Muller MS, et al. Household Transmission of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 in the United States: Living Density, Viral Load, and Disproportionate Impact on Communities of Color. *Clinical Infectious Diseases*. 2022 May 30;74(10):1776–85.
122. Li X, Xu W, Dozier M, He Y, Kirolos A, Theodoratou E. The role of children in transmission of SARS-CoV-2: A rapid review. *J Glob Health*. 2020 Jun;10(1).
123. Madera S, Crawford E, Langelier C, Tran NK, Thornborrow E, Miller S, et al. Nasopharyngeal SARS-CoV-2 viral loads in young children do not differ significantly from those in older children and adults. *Sci Rep*. 2021 Feb 4;11(1):3044.
124. L’Huillier AG, Torriani G, Pigny F, Kaiser L, Eckerle I. Culture-Competent SARS-CoV-2 in Nasopharynx of Symptomatic Neonates, Children, and Adolescents. *Emerg Infect Dis*. 2020 Oct;26(10):2494–7.
125. Jones TC, Biele G, Mühlemann B, Veith T, Schneider J, Beheim-Schwarzbach J, et al. Estimating infectiousness throughout SARS-CoV-2 infection course. *Science (1979)*. 2021 Jul 9;373(6551).
126. Kawasuji H, Takegoshi Y, Kaneda M, Ueno A, Miyajima Y, Kawago K, et al. Transmissibility of COVID-19 depends on the viral load around onset in adult and symptomatic patients. *PLoS One*. 2020 Dec 9;15(12):e0243597.
127. Cendejas-Bueno E, Romero-Gómez MP, Escosa-García L, Jiménez-Rodríguez S, Mingorance J, García-Rodríguez J. Lower nasopharyngeal viral loads in pediatric population. The missing piece to understand SARS-CoV-2 infection in children? *Journal of Infection*. 2021 Aug;83(2):e18–9.

128. Heald-Sargent T, Muller WJ, Zheng X, Rippe J, Patel AB, Kociolek LK. Age-Related Differences in Nasopharyngeal Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Levels in Patients With Mild to Moderate Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *JAMA Pediatr.* 2020 Sep 1;174(9):902.
129. Yonker LM, Neilan AM, Bartsch Y, Patel AB, Regan J, Arya P, et al. Pediatric Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2): Clinical Presentation, Infectivity, and Immune Responses. *J Pediatr.* 2020 Dec;227:45-52.e5.
130. Hurst JH, Heston SM, Chambers HN, Cunningham HM, Price MJ, Suarez L, et al. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infections Among Children in the Biospecimens from Respiratory Virus-Exposed Kids (BRAVE Kids) Study. *Clinical Infectious Diseases.* 2021 Nov 2;73(9):e2875–82.
131. Roversi M, Coltella L, Piccioni L, Raucci U, Torelli A, Papini L, et al. Relationship between viral load and symptoms in children infected with SARS-CoV-2. *Pediatr Res.* 2022 Sep 7;1–8.
132. Chung E, Chow EJ, Wilcox NC, Burstein R, Brandstetter E, Han PD, et al. Comparison of Symptoms and RNA Levels in Children and Adults With SARS-CoV-2 Infection in the Community Setting. *JAMA Pediatr.* 2021 Oct 4;175(10):e212025.
133. Singanayagam A, Patel M, Charlett A, Lopez Bernal J, Saliba V, Ellis J, et al. Duration of infectiousness and correlation with RT-PCR cycle threshold values in cases of COVID-19, England, January to May 2020. *Eurosurveillance.* 2020 Aug 13;25(32).
134. Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, Seilmaier M, Zange S, Müller MA, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature.* 2020 May 28;581(7809):465–9.
135. Gastine S, Pang J, Boshier FAT, Carter SJ, Lonsdale DO, Cortina-Borja M, et al. Systematic Review and Patient-Level Meta-Analysis of SARS-CoV-2 Viral Dynamics to Model Response to Antiviral Therapies. *Clin Pharmacol Ther.* 2021 Aug;110(2):321–33.

136. Cotugno N, Ruggiero A, Bonfante F, Petrara MR, Zicari S, Pascucci GR, et al. Virological and immunological features of SARS-CoV-2-infected children who develop neutralizing antibodies. *Cell Rep.* 2021 Mar;34(11):108852.
137. Zhang J, Litvinova M, Liang Y, Wang Y, Wang W, Zhao S, et al. Changes in contact patterns shape the dynamics of the COVID-19 outbreak in China. *Science* (1979). 2020 Jun 26;368(6498):1481–6.
138. Lauer SA, Grantz KH, Bi Q, Jones FK, Zheng Q, Meredith HR, et al. The Incubation Period of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) From Publicly Reported Confirmed Cases: Estimation and Application. *Ann Intern Med.* 2020 May 5;172(9):577–82.