

ฉบับแปลไทย (Thai Translations)

Reduced seroconversion in children compared to adults with mild COVID-19

<https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2021.10.17.21265121v1>

**การสร้างแอนติบอดี (Seroconversion) ที่ลดลงในเด็ก เมื่อเทียบกับผู้ใหญ่
ที่มีอาการติดเชื้อ COVID-19 ไม่รุนแรง**

ประเด็นสำคัญ

คำถามวิจัย: ระดับภูมิคุ้มกันของผู้ป่วยเด็กที่ติดเชื้อ SARS-CoV-2 ที่อาการไม่รุนแรง (ไม่ต้องนอนโรงพยาบาล) มีอัตราส่วนเป็นเท่าไร เมื่อเทียบกับผู้ใหญ่?

ผลการศึกษา: ในการศึกษาตามแผน ปี 2563 เราพบว่า อัตราส่วนของระดับภูมิคุ้มกันในผู้ป่วยเด็ก ต่อเชื้อ SARS-CoV-2 เป็นครั้งแรกหนึ่ง ของผู้ใหญ่ แม้จะมีระดับไวรัสใกล้เคียงกัน

ความหมาย: Serology เป็นตัวบ่งชี้ที่น่าเชื่อถือน้อยกว่าสำหรับการติดเชื้อ SARS-CoV-2 ก่อนหน้าในเด็ก โดยเด็กที่ติดเชื้อ SARS-CoV-2 ที่ไม่มีการสร้างภูมิคุ้มกันหลังติดเชื้อ (seroconvert) อาจไวต่อการติดเชื้อซ้ำ โดยผลการวิจัยของเรา สนับสนุนกลยุทธ์ในการปกป้องเด็กจาก COVID-19 รวมถึงการฉีดวัคซีน

บทคัดย่อ

ความสำคัญของการวิจัย: ในปัจจุบัน ยังไม่ค่อยมีความเข้าใจ เกี่ยวกับการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันในเด็กต่อการติดเชื้อ SARS-CoV-2

วัตถุประสงค์: เพื่อเปรียบเทียบการสร้างภูมิคุ้มกัน (seroconversion) ในผู้ป่วยเด็กและผู้ใหญ่ ที่มีอาการติดเชื้อ SARS-CoV-2 แบบไม่รุนแรง (ไม่ต้องนอนโรงพยาบาล) และเพื่อทำความเข้าใจปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างภูมิคุ้มกัน

การออกแบบการวิจัย: ผู้เข้าร่วมการวิจัยเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาวิจัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2 ระดับครัวเรือน ซึ่งมีการเก็บตัวอย่างเลือด และตัวอย่างที่เยื่อเมือกด้านหลังโพรงจมูก/ลำคอ รายสัปดาห์ ในช่วงระยะไข้ และระยะฟื้นตัว ตามด้วยการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR

สถานที่ทำการวิจัย: ผู้เข้าร่วมการวิจัย ได้รับการคัดเลือกจาก Royal Children's Hospital เมืองเมลเบิร์น ประเทศออสเตรเลีย ระหว่างเดือนพฤษภาคม และตุลาคม 2563

ผู้เข้าร่วมการวิจัย: ผู้ที่มีผลตรวจหาเชื้อ SARS-CoV-2 โดยวิธีการ PCR nasal/throat swab เป็นบวก

ผลที่คาดว่าจะได้รับและวิธีการ: การตอบสนองของแอนติบอดีและเซลล์ ต่อเชื้อ SARS-CoV-2 ในผู้ป่วยเด็กและผู้ใหญ่ ระดับภูมิคุ้มกัน นิยามจากการตรวจหาภูมิคุ้มกัน (seropositivity) ทั้งสามแบบ

66 **ผลการวิจัย:** จากผู้เข้าร่วมการวิจัย ที่มีผลตรวจ PCR เชื้อ SARS-CoV-2 เป็นบวกทั้งหมด 108 คน โดยมี 57 คน เป็น
67 ผู้ป่วยเด็ก (อายุมัธยฐาน: 4 ปี, IQR 2-10 ปี) และผู้ใหญ่ 51 คน (อายุมัธยฐาน: 37 ปี, IQR 34-45 ปี) จากการใช้วิธีการ
68 ทดสอบภูมิคุ้มกัน 3 วิธี พบว่า ผู้ป่วยเด็กมีอัตราส่วนการเกิดภูมิคุ้มกันต่ำกว่าผู้ใหญ่ [20/54 (37.0%) ต่อ 32/42 (76.2%);
69 ($p < 0.001$)] โดยค่านี้ไม่เกี่ยวข้องกับปริมาณเชื้อไวรัส ซึ่งมีปริมาณใกล้เคียงกันทั้งในเด็กและผู้ใหญ่ [เฉลี่ย Ct 28.58 (SD: 6.83)
64 ต่อ 24.14 (SD: 8.47)] อายุและเพศ ก็ไม่ได้มีผลต่อ seroconversion หรือปริมาณการตอบสนองของแอนติบอดี ทั้งใน
65 ผู้ป่วยเด็กและผู้ใหญ่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผู้ใหญ่ (แต่ไม่ใช่เด็ก) ผู้ใหญ่ที่มีอาการ มีระดับแอนติบอดีสูงกว่าผู้ใหญ่ที่ไม่มี
66 อาการถึง 3 เท่า (ค่ามัธยฐาน 227.5 IU/mL, IQR 133.7-521.6 ต่อ ค่ามัธยฐาน 75.3 IU/mL, IQR 36.9-113.6) โดยมีการพบ
67 หลักฐานภูมิคุ้มกันแบบเซลล์ (cellular immunity) ในผู้ใหญ่ที่ seroconvert แต่ไม่พบในเด็กที่ seroconvert

68
69 **บทสรุปและความเกี่ยวข้อง:** ในกลุ่มผู้ป่วย COVID-19 ที่อาการไม่รุนแรง และไม่ได้นอนโรงพยาบาลนั้น ผู้ป่วยเด็กมี
70 แนวโน้มที่จะ seroconvert น้อยกว่าผู้ใหญ่ แม้ว่าปริมาณเชื้อไวรัสจะใกล้เคียงกัน ซึ่งมีความเกี่ยวข้องสำหรับการป้องกันใน
71 อนาคต หลังการติดเชื้อ COVID-19 ในเด็ก และสำหรับการตีความผลการทำ serosurvey ที่เกี่ยวข้องกับเด็ก การวิจัย
72 เพิ่มเติมเพื่อทำความเข้าใจ ว่าทำไมเด็กจึงมีโอกาสน้อยที่จะเกิดการ seroconvert และพัฒนาอาการหลังการติดเชื้อ
73 SARS-CoV-2 และการเปรียบเทียบการตอบสนองของวัคซีน อาจมีความสำคัญทางคลินิกและทางวิทยาศาสตร์

74 บทนำ

76 ตั้งแต่เริ่มมีการระบาดของโรคติดเชื้อ COVID-19 ผู้ป่วยเด็กส่วนใหญ่ที่ติดเชื้อ COVID-19 มักไม่แสดงอาการ
77 หรือมีอาการเพียงเล็กน้อย และมีเพียงไม่กี่คนที่ต้องนอนโรงพยาบาล¹⁻³ อย่างไรก็ตาม มีเคสการติดเชื้อ COVID-19 ในเด็ก
78 เพิ่มขึ้นในปี 2564 เนื่องจากเกิดการกลายพันธุ์ของเชื้อ SARS-CoV-2 โดยเฉพาะ สายพันธุ์เดลต้า ซึ่งนำไปสู่คำถามที่สำคัญ
79 เกี่ยวกับการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันในผู้ป่วยเด็ก^{4,5} ในขณะที่ ความรุนแรงของโรคติดเชื้อ COVID-19 โดยทั่วไปมี
80 ความสัมพันธ์กับปริมาณการตอบสนองภูมิคุ้มกันของโฮสต์ต่อ SARS-CoV-2^{6,7} เด็กและวัยรุ่นที่ติดเชื้อ SARS-CoV-2 ที่
81 ไม่รุนแรงหรือไม่แสดงอาการยังสามารถสร้างการตอบสนองของแอนติบอดีที่แข็งแกร่งและทนทานได้⁸

82 ภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ SARS-CoV-2 ที่เกิดขึ้นจากการติดเชื้อตามธรรมชาติ มีแนวโน้มที่จะเกิดขึ้นจากทั้ง humeral และ
83 cellular immunity⁹⁻¹¹ การศึกษาบางงานที่เปรียบเทียบผู้ป่วยเด็กและผู้ใหญ่แสดงให้เห็นถึงโปรไฟล์ภูมิคุ้มกันที่ต่างกัน¹²⁻¹⁵
84 ซึ่งมีส่วนทำให้ ผู้ป่วยเด็กมีการแสดงอาการที่รุนแรงน้อยกว่าเมื่อเทียบกับผู้ใหญ่

85 ยังไม่มีการระบุความสัมพันธ์ของการป้องกันเชื้อ SARS-CoV-2 แม้ว่า neutralizing antibody จะได้รับการ
86 ยอมรับมากขึ้นว่า เป็น primary mediator ในการป้องกัน¹⁶⁻¹⁸ โดยผู้ใหญ่ส่วนใหญ่ (>90%) ที่ติดเชื้อ SARS-CoV-2 มีการ
87 ตอบสนองของแอนติบอดี^{19,20} ซึ่งสามารถคงอยู่ได้นานอย่างน้อย 12 เดือน²¹ ผู้ใหญ่ที่ฟื้นตัวจากการที่ร่างกายสร้างภูมิคุ้มกัน
88 จากการติดเชื้อ คาดว่าจะมีการป้องกันการติดเชื้อซ้ำจากสายพันธุ์เดิมได้ถึง 89%^{22,23} ในทางตรงกันข้าม ยังไม่ทราบสัดส่วน
89 ของผู้ป่วยเด็กที่ติดเชื้อ SARS-CoV-2 แล้วมีการสร้างภูมิคุ้มกันจากการติดเชื้อ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผู้ป่วยเด็กที่ไม่มีอาการ

90 หรืออาการไม่รุนแรง

91 การอธิบายลักษณะของการตอบสนองของภูมิคุ้มกันจากการติดเชื้อตามธรรมชาติ นั้น มีความสำคัญต่อการทำความเข้าใจปัจจัยที่อาจเกี่ยวข้องต่อการป้องกันในอนาคต ในการศึกษา เราได้เปรียบเทียบ seroconversion และ cellular
92 immunity ในผู้ป่วยเด็กและผู้ใหญ่ หลังจากติดเชื้อ SARS-CoV-2 สายพันธุ์ดั้งเดิม (อ่อน) และตรวจสอบปัจจัยต่างๆ
93 ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองนี้ ในการศึกษาตามแผนระดับครัวเรือน ในเมืองเมลเบิร์น ประเทศออสเตรเลีย

95

96 **วิธีการ**

97 *กลุ่มตัวอย่าง*

98 ผู้เข้าร่วมการวิจัยที่ได้รับการคัดเลือก จากกลุ่มตัวอย่างระดับครัวเรือน ที่ Royal Children's Hospital
99 เมืองเมลเบิร์น ประเทศออสเตรเลีย ระหว่างเดือนพฤษภาคม และเดือนตุลาคม 2563 ขึ้นชั้นการติดเชื้อ SARS-CoV-2 โดย
100 การ PCR จากตัวอย่างเชื้อในเยื่อโพรงจมูก (NP) ผู้เข้าร่วมงานวิจัยเป็นผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาโรคติดเชื้อ COVID-19
101 แบบไม่มีอาการ หรือมีอาการไม่รุนแรง (เช่น ไข้หวัด, ปวดหัว, คลื่นไส้, มีไข้, ไอ, เจ็บคอ, ไม่สบายตัว และ/หรือ
102 ปวดกล้ามเนื้อ) โดยมีการเก็บตัวอย่างเชื้อหลังจากขึ้นชั้นการติดเชื้อ (baseline swab) และตัวอย่างเลือดในระยะพักฟื้น
103 (convalescent blood samples) (ค่ามัธยฐาน 41 วัน, interquartile range, IQR: 31-49) จากผู้เข้าร่วมวิจัยทุกคน
104 กลุ่มย่อยของบุคคลมีการเก็บตัวอย่างเชื้อ โดย NP swab เพิ่มเติมสองถึงสี่ครั้งต่อสัปดาห์ และเก็บตัวอย่างเลือดหลังขึ้นชั้น
105 การติดเชื้อ (baseline blood sample) (ค่ามัธยฐาน 7-12 วัน, IQR: 4-13 หลังการเก็บตัวอย่างเชื้อครั้งแรก) รวมถึง
106 การเก็บตัวอย่างเลือดภายหลัง ที่ค่ามัธยฐาน 94 วัน (IQR: 91-100) โดยได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจาก
107 ผู้ใหญ่/ผู้ปกครองและเด็ก ตามลำดับ การศึกษาวิจัยนี้ได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ (HREC)
108 ของ Royal Children's Hospital เมืองเมลเบิร์น: HREC/63666/RCHM-2019

109

110 *การวินิจฉัย SARS-CoV-2 โดย PCR*

111 การเก็บตัวอย่างเชื้อ ทั้งที่ oropharyngeal และ nasopharyngeal (หรือ deep nasal) โดยใช้ FLOQSwabs®
112 แบบแห้ง (Copan, Brescia, Italy) โดย elute FLOQSwabs ใน phosphate buffered saline (PBS) และใช้
113 eluent สำหรับการสกัดกรดนิวคลีอิก โดยใช้ระบบการสกัด Roche MagNA Pure 96 (Roche, Basel,
114 Switzerland) ตามขั้นตอนที่ผู้ผลิตกำหนด โดยตัวอย่างเชื้อ SARS-CoV-2 ส่วนใหญ่ ทดสอบขั้นแรกโดยใช้
115 LightMix® Modular SARS และ Wuhan CoV E-gene kit (targeting the E-gene; sensitivity 96.5%,
116 specificity of 98.5%²⁴; TIB Molbiol, Berlin, Germany) โดยใช้สารสกัดจากกรดนิวคลีอิก 10 µL
117 ตามขั้นตอนที่ผู้ผลิตกำหนด ส่วน RT-qPCR ทำโดยใช้ LightCycler 480 II Real-Time PCR System (Roche)
118 ผู้ป่วยที่ผลเป็นบวก SARS-CoV-2 วินิจฉัยโดย ค่า Ct ตามค่าที่กำหนด

119

120

121 *การวินิจฉัย SARS-CoV-2 serology*

122 - *วิธี In-house ELISA*

123 เราใช้เทคนิค modified two-step ELISA โดยอ้างอิงตามวิธีของ Mount Sinai Laboratory ดังที่อธิบายไว้

124 ก่อนหน้านี้^{25,26} อธิบายโดยสังเขป 96-well high-binding plates จะถูกเคลือบด้วย receptor binding domain

125 (RBD) หรือ S1 (Sino Biological, China) แอนติเจนซึ่งเจือจางใน PBS ที่ 2 µg/mL ตัวอย่างซีรัมจะถูกคัดกรอง

126 ด้วย RBD antigen และจากนั้นยืนยันตัวอย่างที่มีโอกาสเป็น seropositive ด้วย S1 แอนติเจน แล้วใช้ Goat

127 anti-human IgG-(1:10,000) horseradish peroxidase (HRP) conjugated secondary antibody และเตรียม

128 เพลดโดยใช้สารละลาย 3,3', 5,5'-tetramethylbenzidine substrate จากนั้นไตเตรตและคำนวณ ตัวอย่าง seropositive

129 โดยอ้างอิงจาก SARS-CoV-2 pooled serum standard ของ องค์การอนามัยโลก (WHO) (National Institute of

130 Biological Standards and Controls, United Kingdom) ผลลัพธ์รายงานเป็น International Units/mL

131 ค่า cut-off สำหรับ seropositivity คือ 8.36 IU/mL ตามตัวอย่างก่อนการระบาดของโรค ในขณะที่ seronegative

132 มีค่า cut-off ที่ครึ่งหนึ่งของ seropositive

133

134 - *Liaison SARS-CoV-2 S1/S2 IgG assay (Saluggia, Italy)*

135 การทดสอบเชิงปริมาณสำเร็จรูป สำหรับการตรวจหาแอนติบอดี IgG ที่จับกับแอนติเจน S1/S2 ของเชื้อ

136 SARS-CoV-2 ดำเนินการตามที่ผู้ผลิตกำหนด โดยรายงานข้อมูลเป็นหน่วย Assay Units (AU)/mL;

137 negative (<12.0 AU/mL), equivocal (12.0-15.0 AU/mL), หรือ positive (>15.0 AU/mL)

138

139 - *Wantai SARS-CoV-2 antibody ELISA (Beijing, China)*

140 การทดสอบเชิงคุณภาพสำเร็จรูปนี้ตรวจหาแอนติบอดีทั้งหมด (รวมถึง IgG และ IgM) ที่จับกับ SARS-CoV-2

141 RBD แอนติเจน การทดสอบ ทำโดยปฏิบัติตามขั้นตอนที่ผู้ผลิตกำหนด โดยรายงานข้อมูลเป็นอัตราส่วนของการดูดกลืนแสง

142 เหนือจุดตัดควบคุมของชุดคิด; seropositive กำหนดเป็นอัตราส่วน ≥ 1.0

143

144 *Flow cytometry*

145 สำหรับประชากร T- และ B- cell (convalescent sample) สกัด whole blood ด้วยบัฟเฟอร์สกัด

146 เซลล์เม็ดเลือดแดง (1:10 dilution) เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง (RT) จากนั้นเจือจาง Whole blood ใน PBS และ

147 centrifuge ที่ 400 x g เป็นเวลา 5 นาที ล้างเซลล์อีกครั้งใน PBS จากนั้น resuspend ในสารละลาย blocking

148 solution 50 µL (1% FC-block และ 5% normal rat serum ใน PBS) เป็นเวลา 15 นาทีในน้ำแข็งหลังจากบดลือก

149 แล้ว ล้างเซลล์ด้วย FACS buffer (2% FBS ใน PBS) 1 mL แล้วเชื่อมด้วย antibody cocktail 1 หรือ 2 ปริมาณ 50 µL

150 เป็นเวลา 20 นาทีในน้ำแข็ง (ตารางเพิ่มเติมที่ 1) หลังจากย้อมสี ล้างเซลล์อีก 2 ครั้ง แล้ว resuspend ใน FACS
151 buffer ปริมาณ 100 μ L สำหรับการย้อมสี Cytek Aurora จากนั้นทำการ Compensation ในขณะที่ acquisition โดยใช้
152 compensation beads (BD Bioscience, San Diego, CA, USA) ข้อมูลวิเคราะห์โดยใช้ FlowJo (Tree Star)
153 โดยภาพประกอบที่ 1 และ 2 แสดงกลยุทธ์การเกตแบบแมนนวลสำหรับ B- และ T cell panel
154 สำหรับประชากร innate cell (baseline sample) ทำการ aliquote whole blood ปริมาณ 100 μ L เพื่อใช้สำหรับ
155 การวิเคราะห์ flow cytometry จากนั้น สลาย whole blood ด้วยบัฟเฟอร์สลายเซลล์เม็ดเลือดแดง ปริมาณ 1 mL เป็นเวลา
156 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ล้างเซลล์ด้วย PBS 1 mL และ centrifuge ที่ 350 x g เป็นเวลา 5 นาที หลังจากล้างอีก 2 ครั้ง
157 resuspend เซลล์ ใน PBS เพื่อย้อมเซลล์ที่ยังมีชีวิตอยู่ โดยใช้สีย้อมไกลอินฟราเรดตามขั้นตอนที่ผู้ผลิตกำหนด
158 หยุดปฏิกิริยาของสีย้อมโดยการเติมบัฟเฟอร์ FACS (2% heat-inactivated FCS ใน 2 mM EDTA) และ centrifuge
159 เซลล์ที่ 350 x g เป็นเวลา 5 นาที จากนั้น resuspend เซลล์ใน human FC-block เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง
160 เตรียม whole blood innate cocktail (ตารางเพิ่มเติมที่ 2) ที่ความเข้มข้น 2X และเติมที่อัตราส่วน 1:1 กับเซลล์
161 แล้ว incubate เป็นเวลา 30 นาทีในน้ำแข็ง หลังจากย้อมสี ล้างเซลล์ด้วยบัฟเฟอร์ FACS ปริมาณ 2 mL และ centrifuge ที่
162 350 x g เป็นเวลา 5 นาที จากนั้น resuspend เซลล์ใน 2% PFA สำหรับการตรึงในน้ำแข็ง 20 นาที แล้วล้าง และ
163 resuspend ใหม่ในบัฟเฟอร์ FACS 150 μ L เพื่อ acquisition โดยใช้ BD LSR X-20 Fortessa ภาพประกอบที่ 3 แสดง
164 กลยุทธ์การเกตแบบแมนนวลสำหรับประชากร innate cell

165

166 การวิเคราะห์เชิงสถิติ

167 ระดับแอนติบอดีและค่า Ct ระหว่างผู้ป่วยเด็กและผู้ใหญ่ รวมถึง seropositive/seronegative ในเด็กหรือผู้ใหญ่
168 เปรียบเทียบโดยใช้ Mann-Whitney U test ส่วน Fisher's exact test นั้น ใช้สำหรับเปรียบเทียบทั้งอัตราส่วนของ
169 ผู้ป่วยที่ seropositive และผู้ป่วยที่มีอาการในเด็กและผู้ใหญ่ สำหรับการวิเคราะห์สหสัมพันธ์ (correlation analysis)
170 ทำการแปลงข้อมูลระดับแอนติบอดีโดยใช้ค่าล็อก และวิเคราะห์โดยใช้ Pearson's correlation analysis โดย
171 การวิเคราะห์ทั้งหมด ทำใน GraphPad Prism 7.0 โดยมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$

172

173 ผลการวิจัย

174 คุณลักษณะผู้เข้าร่วมวิจัย

175 ระหว่างวันที่ 10 พฤษภาคม 2563 ถึง 28 ตุลาคม 2563 เด็กจำนวน 134 คน (อายุต่ำกว่า 18 ปี) และผู้ใหญ่จำนวน 160
176 คน (อายุ 19–73 ปี) จาก 95 ครอบครัว ได้ถูกคัดเลือกเข้าร่วมการศึกษาวิจัยในระดับครัวเรือน โดยเด็กรวม 54/134 คน (42.5%)
177 และผู้ใหญ่ 51/160 คน (31.9%) ติดเชื้อ SARS-CoV-2 (นิยามโดย มีผล PCR สำหรับ SARS-CoV-2 เป็นบวก ในช่วง
178 เวลาใดเวลาหนึ่ง ในห้าช่วงเวลา) และได้รวมอยู่ในการวิเคราะห์ของเราด้วย; ผู้ป่วยเด็ก 30/57 คน และผู้ใหญ่ 19/51 คน มี
179 การเก็บตัวอย่างเชื้อเพิ่มเติม 2 ถึง 4 ครั้งต่อสัปดาห์ โดยผู้ใหญ่ 4 คน ที่ผลตรวจ PCR เป็นลบในวันแรก ตรวจพบผล PCR

180 เป็นบวก ในสัปดาห์ต่อมา อายุมัธยฐานในช่วงลงทะเบียน สำหรับผู้ป่วยเด็ก คือ 4 ปี (IQR: 2-10) และ 37 ปี สำหรับผู้ใหญ่
181 (IQR: 34-45) โดยในจำนวนผู้ป่วยเด็ก 22/57 คน (38.6%) และ 28/51 คน (54.9%) เป็นเพศหญิง
182
183 *เด็กมีภูมิจากการติดเชื้อ (seroconvert) น้อยกว่าเมื่อเทียบกับผู้ใหญ่*
184 งานวิจัยนี้มีการใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูป 2 วิธี และการทดสอบในห้องปฏิบัติการ 1 วิธี ในการวัดระดับการตอบสนอง
185 ของแอนติบอดีในผู้ป่วยเด็ก ครั้งแรก (ค่ามัธยฐาน วันที่ 7-12, IQR: 4-13) และครั้งที่ 2 (ค่ามัธยฐาน วันที่ 41, IQR: 31-49)
186 พบว่าระดับแอนติบอดีมีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญระหว่างการเก็บตัวอย่างครั้งแรก (acute) กับระยะพักฟื้น
187 (convalescence) ในผู้ใหญ่ แต่ไม่เกิดขึ้นกับเด็ก ในการทดสอบทั้ง 3 แบบ (ภาพที่ 1A) ผลจากการทดสอบทั้งสามแบบ มี
188 ความสอดคล้องกันอย่างมาก โดย 96/108 (88.9%) ของตัวอย่างมีเป็นบวก จากการทดสอบทั้งสามแบบ (ภาพที่ 1B,
189 ภาพประกอบเพิ่มเติมที่ 4), และ มีความสอดคล้องกัน 94-97% ระหว่างแต่ละการทดสอบ (ตารางเพิ่มเติมที่ 3) โดยกลุ่มย่อย
190 ของตัวอย่างเหล่านี้ ได้มีการทดสอบเพิ่มโดยวิธีการ SARS-CoV-2 microneutralization assay และผลลัพธ์สอดคล้อง
191 กันกับผลที่ได้จากการทดสอบทั้งสามแบบเช่นกัน (ภาพประกอบเพิ่มเติมที่ 5) น่าสนใจว่า พบการเกิดภูมิคุ้มกันในเด็กที่ติดเชื้อ
192 SARSCoV-2 เกิดขึ้นน้อยกว่า (40.4-40.7%) เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ใหญ่ (61.4-73.7%, ขึ้นอยู่กับการทดสอบที่ใช้) ในช่วง
193 ระยะฟื้นตัว (ภาพที่ 1C) เด็กที่เกิดภูมิคุ้มกันเป็นลบ (seronegative) ทุกคน ในช่วงการตรวจในระยะฟื้นตัว
194 (convalescent timepoint) (วันที่ 41) ไม่มีการเปลี่ยนการเกิดภูมิคุ้มกันเป็นบวก (seropositive) ในช่วงเวลาวันที่ 94
195 (ภาพที่ 1D)
196
197 *ปัจจัยที่อาจมีผลต่อการตอบสนองของแอนติบอดี*
198 เพื่อตรวจสอบปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการ seroconversion เรารวมเฉพาะผู้เข้าร่วมวิจัยที่มีการเกิดภูมิคุ้มกันเป็นบวก
199 (seropositive) หรือ เป็นลบ (seronegative) ในการทดสอบทางซีรัมทั้งสามแบบเท่านั้น (ภาพที่ 2A); 9 ตัวอย่างจาก
200 ผู้ใหญ่ และ 3 ตัวอย่างจากเด็ก ถูกตัดออกเนื่องจากมีสถานะ serostatus ไม่แน่นอน หรือไม่ได้มีการทดสอบครบทั้งสามแบบ
201 เนื่องจากปริมาณตัวอย่างไม่เพียงพอ โดยเราไม่พบความแตกต่างของปริมาณไวรัส ที่ baseline ระหว่างเด็กและผู้ใหญ่
202 [ค่าเฉลี่ย Ct 28.58 (SD: 6.83) ต่อ ค่าเฉลี่ย Ct 24.14 (SD: 8.47)] (Fig. 2B) เวลาระหว่างการวินิจฉัย PCR ถึงการเก็บ
203 convalescent sample ก็ใกล้เคียงกัน (ค่ามัธยฐาน วันที่ 41, IQR, 31-49 ต่อ ค่ามัธยฐาน วันที่ 41, IQR, 35-49) (ภาพที่
204 2C)
205 คนที่มีแนวโน้มที่จะเป็น seropositive มากกว่า มีปริมาณเชื้อไวรัสสูงกว่า และมี viral clearance time นานกว่า
206 (อ้างอิงจากตัวอย่างที่มีการเก็บตัวอย่างหลายครั้ง) แต่ไม่พบความแตกต่างในตัวแปรเหล่านี้ ระหว่างเด็กและผู้ใหญ่ที่เป็น
207 seronegative หรือ seropositive (ภาพที่ 2D- E) โดยค่า Ct ที่น้อยกว่า 26 ส่งผลต่อการเกิดภูมิคุ้มกัน ใน 80% (12/15)
208 และ 91% (10/11) ของเด็กและผู้ใหญ่ ตามลำดับ สัดส่วนของผู้ป่วยเด็กและผู้ใหญ่ที่มีการเกิดภูมิคุ้มกันเป็นบวก มีความ
209 ใกล้เคียงกัน เมื่อแยกโดยเพศ (ภาพที่ 2F) และพบว่า เด็กที่เป็น seronegative และ seropositive มีอายุใกล้เคียงกัน

210 เช่นเดียวกันกับ ระหว่างผู้ใหญ่ที่เป็น seronegative และ seropositive (ภาพที่ 2G)

211 เมื่อตรวจสอบความสัมพันธ์ระหว่างการติดเชื้อแบบแสดงอาการและการตอบสนองของแอนติบอดี พบว่า สัดส่วนของ

212 ผู้ใหญ่ที่เป็นseronegative ติดเชื้อแบบไม่มีอาการ สูงกว่า ผู้ใหญ่ที่เป็น seropositive (4/10, 40% vs. 2/32, 6.3%;

213 $p=0.02$) (ภาพที่ 2H) โดยผู้ใหญ่ที่มีอาการ มีแอนติบอดีมากกว่าผู้ใหญ่ที่ไม่มีอาการ โดยเฉลี่ย สามเท่า (ค่ามัธยฐาน 227.5

214 IU/mL, IQR 133.7-521.6 ต่อ ค่ามัธยฐาน 75.3 IU/mL, IQR 36.9-113.6) และมีปริมาณไวรัสมากกว่า (ไม่มีนัยสำคัญ

215 ทางสถิติ) ผู้ใหญ่ที่ไม่มีอาการ อย่างไรก็ตาม มีผู้ใหญ่จำนวนน้อยที่ไม่มีอาการ และเป็น seropositive (ภาพที่ 2I-J) ในทาง

216 ตรงกันข้าม พบว่า เด็กที่เป็น seropositive มีสัดส่วนที่ไม่แสดงอาการมากกว่า เมื่อเทียบกับเด็กที่เป็น seronegative

217 (แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ) (ภาพที่ 2H) และพบว่า ระดับแอนติบอดีและปริมาณไวรัส ใกล้เคียงกันในผู้ป่วยเด็ก ไม่ว่า

218 จะมีอาการหรือไม่ (ภาพที่ 2I-J) น่าสนใจว่า ปริมาณไวรัสสัมพันธ์กับระดับแอนติบอดี (ภาพที่ 2K) แต่ไม่สัมพันธ์กับอายุ

219 (ภาพที่ 2L) ทั้งในเด็กและผู้ใหญ่

220

221 การตอบสนองของภูมิคุ้มกันระดับเซลล์ ในเด็กและผู้ใหญ่ หลังติดเชื้อ SARS-CoV-2

222 ในช่วงระยะพักฟื้น ผู้ใหญ่ที่มีเป็น seropositive มีความถี่ของ IgG+ memory B cells ที่สัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้น

223 ของ transitional B cells, CD4+ และ CD8+ ต่ำกว่า T effector memory (TEM) cells อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบ

224 กับผู้ใหญ่ที่ไม่ติดเชื้อ ผลต่างเหล่านี้ พบในระหว่างผู้ใหญ่ที่เป็น seropositive และ seronegative เช่นกัน แต่ไม่มี

225 นัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 3) ส่วนในผู้ป่วยเด็ก ไม่พบความแตกต่างระหว่าง IgG+ memory B cells, CD4+ TEM หรือ

226 CD8+ TEM cells อย่างไรก็ตาม เด็กที่เป็น seropositive และ seronegative แสดงระดับของ translational B cells

227 สูงกว่าเด็กที่ไม่มีการติดเชื้อ (ภาพที่ 3) ไม่พบความแตกต่างอื่น สำหรับประชากรเซลล์อื่นๆ ที่ศึกษาในเด็กหรือผู้ใหญ่

228 (ภาพประกอบเพิ่มเติมที่ 6) นอกจากนี้เรายังเปรียบเทียบการตอบสนองโดยธรรมชาติ (innate response) ระหว่างระยะ

229 เฉียบพลัน (acute phase) ในเด็กและผู้ใหญ่ โดยเราพบว่าไม่มีความแตกต่างในการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันโดยธรรมชาติ

230 ทั้งเด็กและผู้ใหญ่ โดยพิจารณาจาก serostatus อย่างไรก็ตาม จำนวนตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์นี้ยังมีน้อย (ภาพประกอบ

231 เพิ่มเติมที่ 7)

232

233 **อภิปรายผล**

234 การศึกษาในครั้งนี้พบว่า เด็กที่ขึ้นชันการติดเชื้อ SARS-CoV-2 นั้น มีสัดส่วนการสร้างภูมิคุ้มกันจากการติดเชื้อ

235 (seroconvert) ในสัดส่วนที่น้อยกว่าเมื่อเทียบกับผู้ใหญ่ แม้ปริมาณไวรัสจะไม่ต่างกัน อย่างไรก็ตาม การติดเชื้อ SARS-

236 CoV-2 ในผู้ใหญ่ มีการสร้างความเปลี่ยนแปลงของโปรไฟล์ภูมิคุ้มกันระดับเซลล์ ซึ่งพบมากในผู้ใหญ่ที่เป็น seropositive

237 ในขณะที่ ความเปลี่ยนแปลงนี้ไม่พบในเด็ก ยกเว้นแต่ translational B cells โดยรวมการศึกษาของเราให้ข้อมูลเชิงลึกว่า เด็ก

238 และผู้ใหญ่ตอบสนองต่อไวรัสต่างกันอย่างไร โอกาสที่จะเกิดการสร้างภูมิคุ้มกันหลังติดเชื้อที่ลดลง อาจหมายความว่า เด็ก

239 ได้รับการป้องกันจากการติดเชื้อ SARS-CoV-2 ในระยะยาวนานกว่า เมื่อเทียบกับผู้ใหญ่

240 มีหลายปัจจัย เช่น อายุ ปริมาณไวรัส เทศ ไรคร่วม (รวมถึง เบาหวาน มะเร็ง และภูมิคุ้มกันบกพร่อง) และความรุนแรง

241 ของโรค ที่พบว่าเมื่อพิจารณาต่อการตอบสนองของแอนติบอดี SARS-CoV-2²⁷⁻³⁵ เท่าที่ทราบ ในปัจจุบันยังไม่มีรายงานข้อมูล
242 เกี่ยวกับสัดส่วนของเด็กที่ติดเชื้อ SARS-CoV-2 ที่ seroconvert และปัจจัยที่มีผลกระทบต่อสิ่งนี้ โดยผลการศึกษาเมื่อ
243 ไม่นานมานี้ พบว่า 36% ของผู้ใหญ่ที่ป่วยด้วยโรค COVID-19 ที่ไม่รุนแรง ไม่เกิดการสร้างภูมิคุ้มกันหลังติดเชื้อ
244 (seroconvert)³⁶ เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ใหญ่ที่ seroconvert พบว่า ผู้ใหญ่ที่เป็น seropositive มีปริมาณไวรัสในทางเดิน
245 หายใจต่ำกว่า และมีอายุน้อยกว่า (50 ปี ต่อ 40 ปี)³⁶ ซึ่งสัดส่วนของผู้ใหญ่ที่ไม่ seroconvert ก็ใกล้เคียงกับที่พบในการศึกษา
246 ของเรา โดยการศึกษาอื่นในผู้ใหญ่ได้รายงานอัตรา variable seroconversion ระหว่าง 5 and 25%^{30,37-39} ปริมาณไวรัสมี
247 ความใกล้เคียงกันระหว่างเด็กและผู้ใหญ่ในกลุ่มประชากรของเรา ซึ่งไม่ได้อธิบายว่าทำไมเด็ก จึง seroconvert น้อยกว่าเมื่อ
248 เทียบกับผู้ใหญ่ อย่างไรก็ตาม ข้อมูลของเราชี้ให้เห็นว่า ค่า Ct ที่น้อยกว่า 26 นั้น สัมพันธ์กับ seroconversion ทั้งในเด็กและ
249 ผู้ใหญ่ ซึ่งในการศึกษาก่อนหน้านี้ ได้มีการรายงานเกณฑ์ค่า Ct ที่ใกล้เคียงกันที่ 25 พบว่าสัมพันธ์กับ seroconversion⁴⁰
250 ที่น่าสนใจคือ การติดเชื้อแบบไม่แสดงอาการมีความสัมพันธ์กับการลดลงของระดับการสร้างภูมิคุ้มกันหลังการติดเชื้อ
251 (seropositivity) และระดับแอนติบอดีในผู้ใหญ่ แต่ไม่พบในเด็ก ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้าในผู้ใหญ่^{35,41} และเด็ก⁸
252 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการตอบสนองทางร่างกายของโฮสต์ต่อการติดเชื้อ SARS-CoV-2 ในเด็กนั้น แตกต่างจากผู้ใหญ่ แม้จะมี
253 ปริมาณไวรัส และการแพร่กระจายของไวรัสที่ใกล้เคียงกัน
254 มีสมมติฐานทางภูมิคุ้มกันหลายประการว่า เหตุใด เด็กจึงมีโอกาสน้อยกว่าที่จะ seroconvert ประการแรก โปรไฟล์
255 ของแอนติบอดี (antibody isotypes และ subclasses)^{12,14,42-44} และประชากร memory B cell ซึ่งมีรายงานว่าแตกต่างกัน
256 ระหว่างเด็กและผู้ใหญ่ แต่ส่วนใหญ่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงของโรค^{45,46} โดยที่มิจัยของเรา²⁵ และที่มิจัยอื่นๆ^{12,20,42,43,47} ได้
257 รายงานระดับแอนติบอดี IgG เฉพาะของ SARS-CoV-2 ที่ใกล้เคียงกันระหว่างเด็กและผู้ใหญ่ อย่างไรก็ตาม เราไม่ได้
258 ตรวจวัดคลาสย่อยของ IgG (เช่น IgG1 และ IgG3) ซึ่งสัมพันธ์กับความรุนแรงของ COVID-19 และผลกระทบ
259 ของอายุ^{14,44} ในการศึกษาของเรา เราสังเกตเห็นการลดลงของ IgG memory B cells ในกลุ่มผู้ใหญ่ที่เป็น seropositive
260 ซึ่งสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของ translational B cells ในเด็กและผู้ใหญ่ที่ติดเชื้อ SARS-CoV-2 สามารถอธิบายได้ทาง
261 หนึ่งว่า การกระตุ้น memory B cell ที่มีอยู่ก่อน ในระหว่างการติดเชื้อ SARS-CoV-2 นำไปสู่การเพิ่มขึ้นของ
262 translational B cells เพื่อชดเชยการสูญเสียใน B cell compartment^{48,49} แต่ transitional B cells จะมีบทบาท
263 ในการ seroconversion หรือไม่ ยังต้องพิจารณาต่อไป
264 ประการที่สอง การตอบสนองของ T cell แตกต่างกันระหว่างเด็กและผู้ใหญ่ที่ติดเชื้อ SARS-CoV-2 การศึกษา
265 ล่าสุดเกี่ยวกับ การตอบสนองของ T cell ต่อ SARS-CoV-2 ในเด็กและผู้ใหญ่ที่ติดเชื้อ COVID-19 ที่ไม่รุนแรง พบว่า
266 เด็กที่ติดเชื้อ มี CD4+ T cell effector memory ต่อโปรตีนของเชื้อ SARS-CoV-2 ลดลง เมื่อเทียบกับผู้ใหญ่ที่
267 ติดเชื้อ⁵⁰ ซึ่งสอดคล้องกับการค้นพบของเรา แม้ว่าเราไม่ได้ทำการทดสอบ *ex vivo* stimulation โดยข้อมูลของเรา
268 สนับสนุนแนวคิดที่ว่า การติดเชื้ออาจไม่ทำให้เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันระดับเซลล์ที่แข็งแกร่งในเด็ก ซึ่งจำเป็น
269 สำหรับการ seroconversion ดังที่พบในผู้ใหญ่^{51,52}
270 เด็กถูกมองว่ามีภูมิคุ้มกันโดยกำเนิด และ/หรือภูมิคุ้มกันแบบเยื่อเมือก (innate and/or mucosal immune
271 response) ต่อเชื้อ SARS-CoV-2 ที่แข็งแกร่งกว่าผู้ใหญ่^{13,15,53-55} ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่า ทำไมเด็กในการศึกษาของเรา จึง
272 ไม่ปรากฏว่า กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ (adaptive immune system) เช่นเดียวกับผู้ใหญ่ อย่างไรก็ตาม การ
273 วิเคราะห์การตอบสนองภูมิคุ้มกันโดยธรรมชาติในเด็ก โดย serostatus ไม่ได้เปิดเผยความแตกต่างใดๆ ซึ่งอาจเนื่องมาจาก

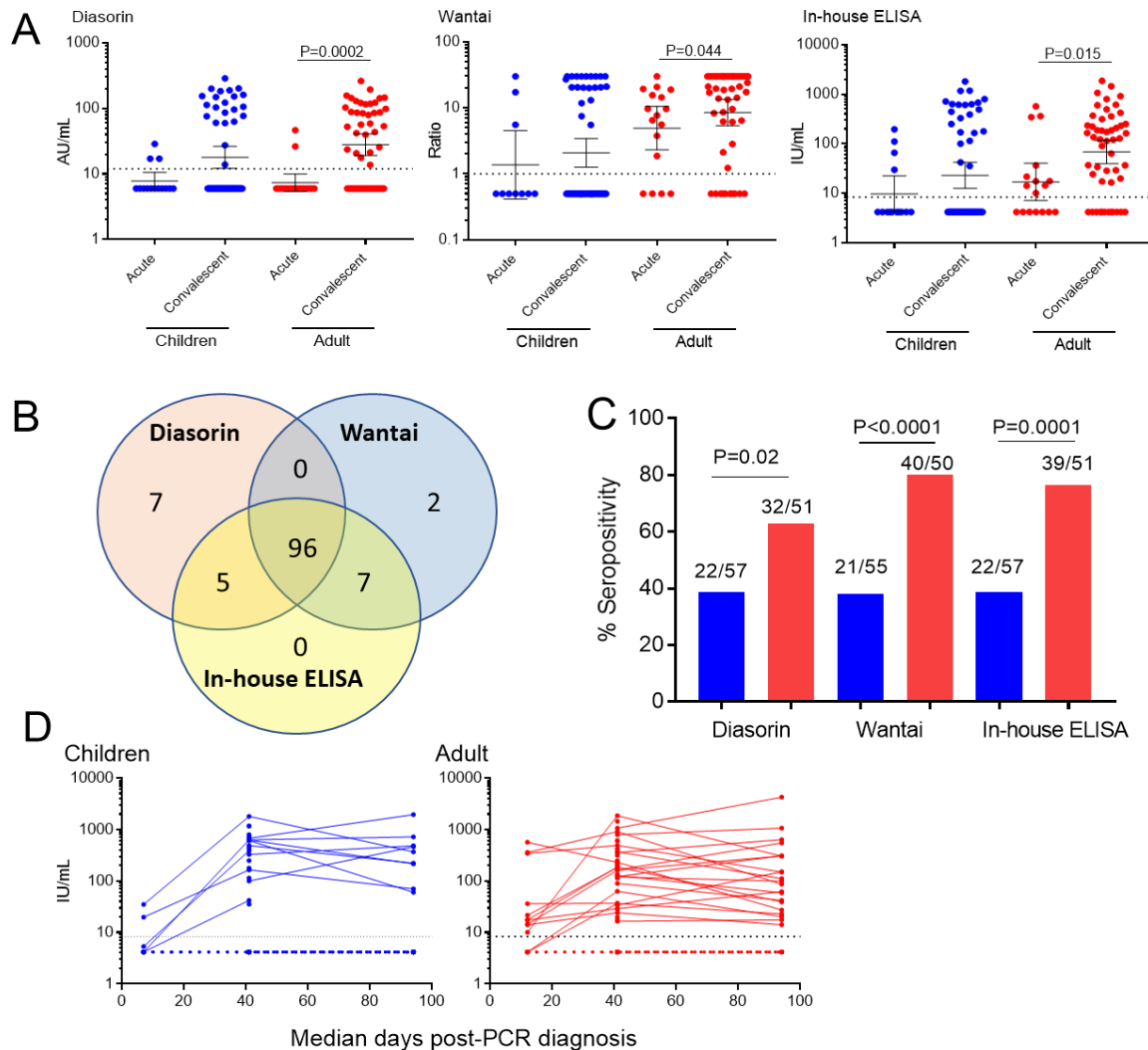
274 กลุ่มตัวอย่างที่มีขนาดเล็ก ภูมิคุ้มกันโดยธรรมชาติที่มีประสิทธิภาพมากขึ้น อาจใช้เวลาสั้นลงในการกำจัดไวรัสในเด็กที่เป็น
275 seronegative แต่ไม่ได้พบในการศึกษาครั้งนี้ ก่อนหน้านั้นเราได้แสดงให้เห็นว่าการปรากฏตัวของระดับ mucosal SARS-
276 CoV-2 antibody ในเด็ก มีความสัมพันธ์กับ symptom resolution และ การไม่มี seroconversion ในกรณีศึกษาใน
277 ครอบครัว⁵³ การวิเคราะห์เพิ่มเติมเกี่ยวกับการตอบสนองของเยื่อเมือกในเด็ก อยู่ในช่วงการดำเนินการ เห็นได้ชัดว่า มี
278 ปัจจัยหลายประการที่นำไปสู่การไม่มี seroconversion และจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อปรับปรุงความเข้าใจของเรา
279 เกี่ยวกับการตอบสนองนี้

280 ผลการศึกษานี้ มีนัยสำคัญต่อการการป้องกันเชื้อ SARS-CoV-2 ในเด็ก ซึ่งมีการศึกษาจำนวนมากที่ได้เน้นย้ำถึง
281 ความสำคัญของแอนติบอดีต่อการป้องกันเชื้อ SARS-CoV-2 การศึกษาในสหรัฐ⁵⁴ เกี่ยวกับคนหนุ่มสาวที่ติดเชื้อ SARS-
282 CoV-2 (อายุ 18-20 ปี) รายงานว่า บุคคลที่เป็น seronegative ที่ติดเชื้อ SARS-CoV-2 มีโอกาส ที่ติดเชื้อซ้ำได้ มากกว่า
283 80% เมื่อเทียบกับบุคคลที่เป็น seropositive การศึกษายังพบว่า ระดับแอนติบอดี IgG ที่ต่ำ ในบุคคลที่เป็น seropositive มี
284 ความเกี่ยวข้องกับการติดเชื้อซ้ำ แม้ว่าผู้ใหญ่ที่เป็น seropositive จะมีปริมาณไวรัสต่ำกว่าบุคคลที่ติดเชื้อ ที่เป็น
285 seronegative ถึง 10 เท่า⁵⁶ ดังนั้นการไม่มี seroconversion อาจส่งผลให้มีความไวต่อการติดเชื้อซ้ำมากขึ้น ซึ่งอาจมี
286 นัยสำคัญต่อการแพร่เชื้อ SARS-CoV-2 ในชุมชนและการตอบสนองของสาธารณสุข

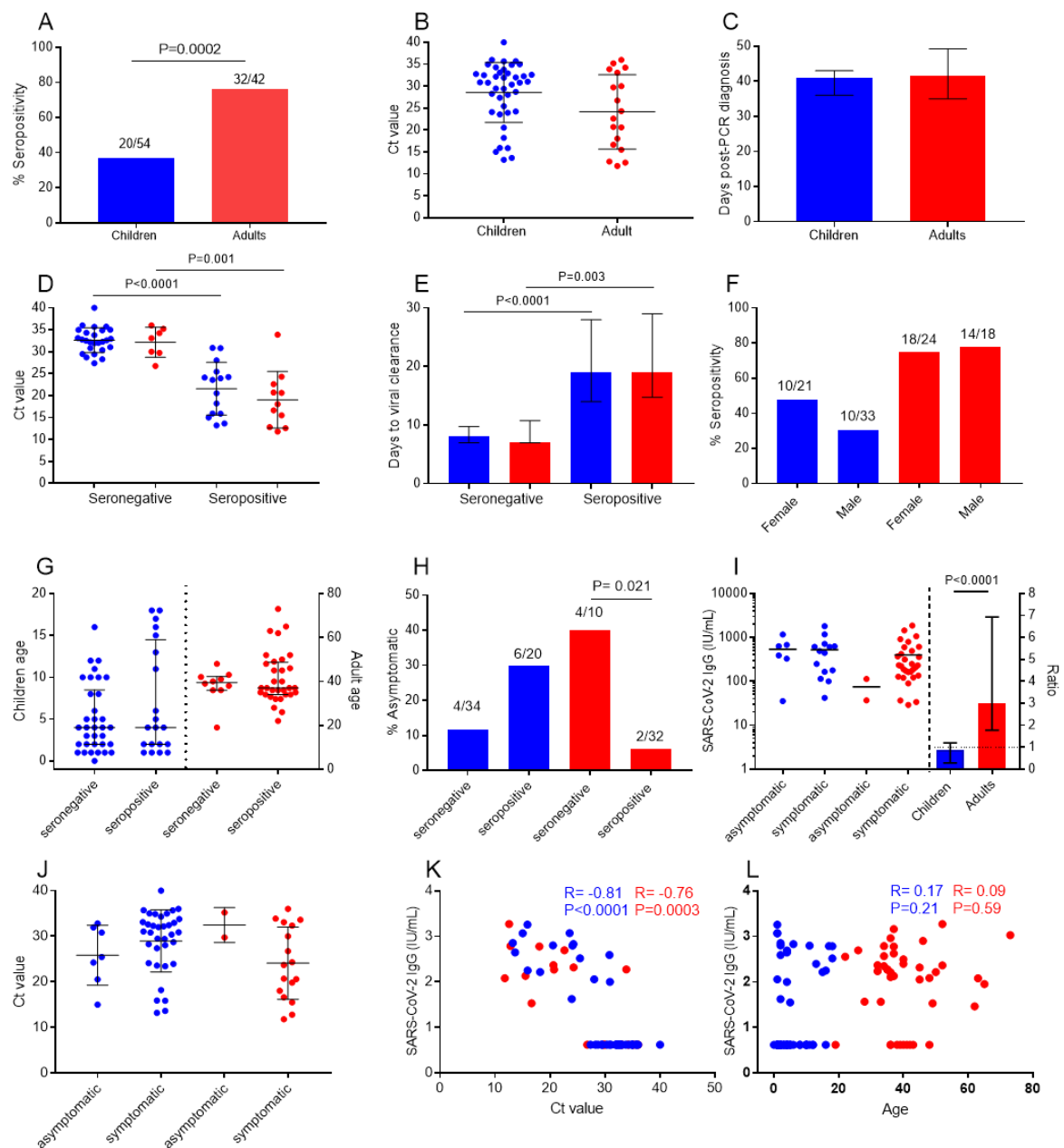
287 สิ่งสำคัญคือ ต้องทราบว่า การศึกษาของเรา อิงจากเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 สายพันธุ์ดั้งเดิม ‘อู่ฮั่น’ ที่แพร่ระบาด
288 ในปี 2563 โดยความเกี่ยวข้องของผลการศึกษาของเรา กับระบาดวิทยาในปัจจุบัน ซึ่งผู้ป่วย COVID-19 ในเด็กที่เพิ่มขึ้น
289 เนื่องจากเชื้อ SARS-CoV-2 สายพันธุ์เดลต้า⁵⁷ นั้น ยังไม่ชัดเจน ไม่ว่าจะพบการลดลงของอัตรา seroconversion ใน
290 เด็ก ในการติดเชื้อสายพันธุ์เดลต้าหรือไม่ ก็ยังไม่เป็นที่แน่ชัดและจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติม ซึ่งสายพันธุ์นี้ มีปริมาณไวรัส
291 ที่สูงกว่าถึง 1,000 เท่า เมื่อเทียบกับสายพันธุ์อู่ฮั่น ดังนั้นจึงคาดว่าอัตรา seroconversion ในเด็กอาจจะสูงขึ้น⁵⁸

292 จุดแข็งของการศึกษานี้ มีการใช้การทดสอบทางซีรัมวิทยาสามแบบ เพื่อตรวจสอบการตอบสนองของแอนติบอดีต่อ
293 SARS-CoV-2 รวมถึงชุดย่อยของตัวอย่างที่มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับการทดสอบ neutralizing antibody โดยการ
294 ทดสอบเหล่านี้ยังแสดงให้เห็นอีกด้วยว่ามีความสัมพันธ์กับการทดสอบ neutralizing antibody ได้ดี^{25,59,60} ส่วน
295 ข้อจำกัดของการศึกษานี้ คือขนาดของกลุ่มตัวอย่างที่เล็ก โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับการวิเคราะห์ระดับเซลล์ นอกจากนี้
296 กลุ่มการศึกษาวิจัยของเรา เกี่ยวกับโรค COVID-19 ที่ไม่รุนแรง ในเด็กและผู้ใหญ่ อาจไม่สามารถสรุปครอบคลุมได้ถึงกลุ่ม
297 ประชากรอื่น เช่น ผู้สูงอายุ หรือบุคคลที่มีปัญหาสุขภาพ

298 นี่เป็นการศึกษาแรกที่รายงานสัดส่วนของเด็กที่ไม่ได้ seroconvert สูงกว่าผู้ใหญ่ แม้ว่าจะมีรายละเอียดทางคลินิก
299 และไวรัสวิทยาที่ใกล้เคียงกัน โดยเด็กที่เป็น seronegative มีความเสี่ยงที่จะติดเชื้อซ้ำมากขึ้น ผลการศึกษามี
300 นัยสำคัญสำหรับการตอบสนองทางด้านสาธารณสุข ในการควบคุมการติดเชื้อ SARS-CoV-2 ในเด็ก และสนับสนุน
301 กลยุทธ์การฉีดวัคซีน COVID-19 เมื่อกลุ่มสำคัญได้รับการฉีดวัคซีนแล้ว



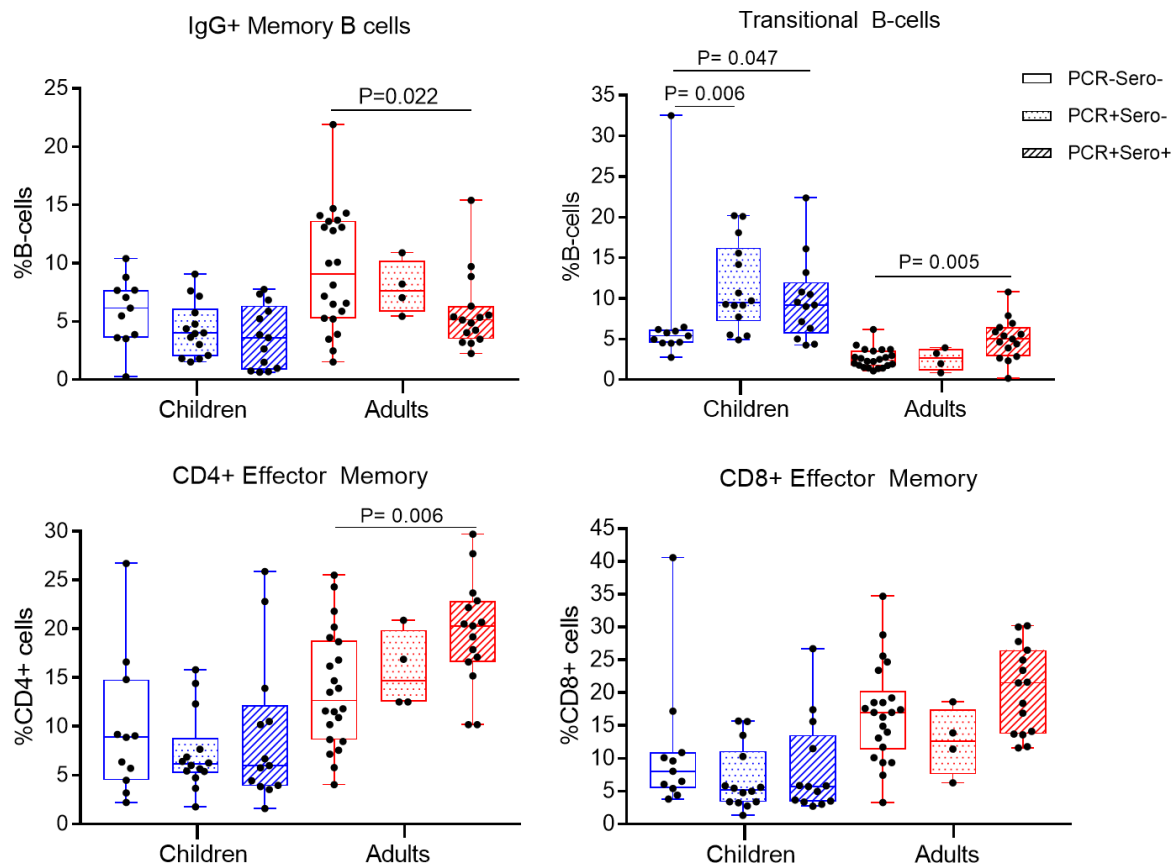
ภาพที่ 1: การตอบสนองของ SARS-CoV-2 antibody ในเด็ก (สีน้ำเงิน) และผู้ใหญ่ (สีแดง) วัดโดย การทดสอบทาง
 ชีรวิทยา สามแบบ ได้แก่ Diasorin (S1/S2), Wantai (RBD) และ in-house ELISA (RBD/S1). (A) ระดับแอนติบอดี
 IgG SARS-CoV-2 เฉลี่ย ($\pm 95\%$ CI) ครั้งแรก (acute) (ค่ามัธยฐาน 7-12 วัน, IQR: 4-13. เด็ก, N=14; ผู้ใหญ่, N=17)
 และระยะพักฟื้น (convalescent) (ค่ามัธยฐาน 41 วัน, IQR: 31-49. เด็ก, N=57; ผู้ใหญ่, N=51). (B) Venn diagram
 แสดงความสอดคล้องของผลลัพธ์การเกิดภูมิคุ้มกัน (seropositivity) ระหว่างการตรวจทางชีววิทยาทั้งสามแบบ (N=105-
 108); ตัวอย่างของผู้ป่วยเด็ก 2 คน และผู้ใหญ่ 1 คน ไม่ได้ตรวจโดยวิธี Wantai. (C) อัตราการเกิดภูมิคุ้มกันในตัวและ
 ผู้ใหญ่ ในระยะพักฟื้น (ค่ามัธยฐาน 41 วัน เด็ก, N=57; ผู้ใหญ่, N=51). (D) ระดับ SARS-CoV-2 IgG ต่อเวลา ในเด็กและ
 ผู้ใหญ่ โดยใช้ in-house ELISA; จำนวนตัวอย่างในแต่ละช่วงเวลา: เด็ก, วันที่ 7 (N=13), วันที่ 41 (N=59), วันที่ 94
 (N=26); ผู้ใหญ่, วันที่ 12 (N=20), วันที่ 41 (N=57), วันที่ 94 (N=29).



311

312 ภาพที่ 2: ปัจจัยที่มีผลต่อการตอบสนอง SARS-CoV-2 antibody จากการทดสอบ in-house ELISA. (A) อัตราการเกิด
 313 ภูมิคุ้มกันเป็นบวก (Seropositivity rate) ในเด็ก (สีน้ำเงิน) และผู้ใหญ่ (สีแดง) ที่ระยะฟื้นตัว (ค่ามัธยฐาน 41 วัน เด็ก, N=54;
 314 ผู้ใหญ่, N=42) ที่เป็น seropositive และ seronegative จากการทดสอบทั้งสามแบบ. (B) ปริมาณไวรัสเฉลี่ย (SD) เท่าที่มี
 315 ข้อมูล ระหว่างผู้ป่วยเด็ก (N=42) และผู้ใหญ่ (N=18) (C) จำนวนวันมัธยฐาน (IQR) ระหว่างการวินิจฉัย PCR เป็นบวก และ
 316 การเก็บตัวอย่างเลือดระยะฟื้นตัว ระหว่างผู้ป่วยเด็ก (N=54) และผู้ใหญ่ (N=42). (D) ปริมาณไวรัสเฉลี่ย (SD) ระหว่างผู้ป่วย
 317 เด็ก (N=42) และผู้ใหญ่ (N=18) แบ่งโดย serostatus. (E) ระยะเวลาการกำจัดเชื้อไวรัส (จำนวนวันมัธยฐาน, IQR) แบ่ง
 318 โดย serostatus (เด็กที่เป็น seronegative, N=20, เด็กที่เป็น seropositive, N=7; ผู้ใหญ่ที่เป็น seronegative, N=4,
 319 ผู้ใหญ่ที่เป็น seropositive, N=10). (F) อัตราการเกิดภูมิคุ้มกัน แบ่งโดยเพศ (G) อายุของผู้ป่วยเด็กและผู้ใหญ่ แบ่งโดย
 320 serostatus (เด็ก, N=54; ผู้ใหญ่, N=42) (ค่ามัธยฐาน, IQR). (H) สัดส่วนของผู้ป่วยเด็กและผู้ใหญ่ที่ไม่มีอาการ แบ่งโดย
 321 serostatus. (I) ระดับแอนติบอดีมัธยฐาน (IQR) ตามอาการ (แกน y ฟังซ้าย) และ จำนวนเท่า มัธยฐาน ของการ

322 เปลี่ยนแปลงระดับแอนติบอดีระหว่างผู้ป่วยที่ไม่มีอาการ และมีอาการ ในเด็ก (N=6 ต่อ N=14) และผู้ใหญ่ (N=2 ต่อ N=30)
 323 (แกน y ฟังก์ชัน). (J) ปริมาณไวรัสเฉลี่ย (SD) แบ่งตามอาการในเด็ก (ไม่มีอาการ, N=7 ต่อ มีอาการ, N=35) และผู้ใหญ่ (ไม่มี
 324 อาการ, N=2 ต่อ มีอาการ, N=17). (K) ความสัมพันธ์ระหว่างระดับแอนติบอดีและปริมาณไวรัส (L) ความสัมพันธ์
 325 ระหว่างระดับแอนติบอดีและอายุ โดยจุด/แท่งกราฟ สีน้ำเงิน แสดงถึง ผู้ป่วยเด็ก และจุด/แท่งกราฟ สีแดง แสดงถึง ผู้ใหญ่
 326 การเกิดภูมิคุ้มกัน (seropositivity) นิยามโดย การเกิดภูมิคุ้มกันเป็นบวก (seropositive) ในทั้งสามแบบ และ
 327 Pearson's correlation analysis ใช้สำหรับตรวจสอบความสัมพันธ์. ค่า Ct : cycle threshold.
 328



329

330 ภาพที่ 3: โปรไฟล์ภูมิคุ้มกันของเซลล์ *Ex vivo* ระยะฟื้นตัว (ค่ามัธยฐาน 41 วัน) ในผู้ป่วยเด็ก (PCR+sero-, N=14;
 331 PCR+sero+, N=13) และผู้ใหญ่ (PCR+sero-, N=4, PCR+sero+, N=15) หลังจากติดเชื้อ SARS-CoV-2;
 332 PCR+sero-: กลุ่มที่มีจุด, PCR+sero+: กลุ่มที่แรเงา เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ติดเชื้อ (PCR-sero-: เด็ก,
 333 N=11; ผู้ใหญ่, N=22); กล่องเปล่า แท่งกราฟแสดงถึงค่ามัธยฐานและพิสัย