

**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**  
**ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**  
**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**  
**«ΛΟΙΜΩΞΙΟΛΟΓΙΑ»**  
**ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Ε. Ι. ΓΙΑΜΑΡΕΛΛΟΣ-ΜΠΟΥΡΜΠΟΥΛΗΣ**

**ΜΑΡΙΑ Π. ΤΣΙΛΙΚΑ**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

---

**BCG ΣΤΗΝ ΠΡΟΛΗΨΗ ΤΗΣ COVID-19**

**ΑΘΗΝΑ 2021**

## **ΜΕΛΗ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ**

1. Καθηγητής Ευάγγελος Γιαμαρέλλος- Μπουρμπούλης,  
Επιβλέπων Μέλος ΔΕΠ
2. Καθηγητής Στυλιανός Ορφανός
3. Καθηγητής Χαράλαμπος Γώγος

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	2
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	3
ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ	4
ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ	9
ΑΓΓΛΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ	10
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	11
1. ΤΟ ΕΜΒΟΛΙΟ BCG ΚΑΙ ΟΙ ΠΛΕΙΟΤΡΟΠΙΚΕΣ ΤΟΥ ΔΡΑΣΕΙΣ	11
2. Η ΑΝΟΣΙΑΚΗ ΑΠΑΝΤΗΣΗ ΤΟΥ ΞΕΝΙΣΤΗ ΕΝΑΝΤΙ ΤΩΝ ΠΑΘΟΓΟΝΩΝ	12
3. BCG ΚΑΙ ΕΚΠΑΙΔΕΥΜΕΝΗ ΑΝΟΣΙΑ	13
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	15
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	15
2. ΜΕΘΟΔΟΙ	17
I. ΚΛΙΝΙΚΗ ΔΟΚΙΜΗ	17
II. ΑΣΘΕΝΕΙΣ	17
III. ΠΑΡΕΜΒΑΣΕΙΣ	18
IV. ΠΡΩΤΟΓΕΝΕΣ ΚΑΤΑΛΗΚΤΙΚΟ ΣΗΜΕΙΟ	19
V. ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΗ ΚΑΤΑΛΗΚΤΙΚΑ ΣΗΜΕΙΑ	20
VI. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	21
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	22
I. ΑΣΘΕΝΕΙΣ	22
II. ΠΡΩΤΟΓΕΝΕΣ ΚΑΙ ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΗ ΚΑΤΑΛΗΚΤΙΚΑ ΣΗΜΕΙΑ	25
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	26
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	31

## **ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ**

**Όνομα:** Μαρία

**Επώνυμο:** Τσιλικά

**Όνομα Πατρός:** Παναγιώτης

**Ημερομηνία Γέννησης:** 14/01/1986

**Τηλέφωνο Επικοινωνίας:** +30 6973 667 006

**E-mail:** martsili@yahoo.gr

---

### **ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ**

**Εγκύκλιες Σπουδές:** Βαρβάκειο Πειραματικό Γυμνάσιο και Λύκειο,  
2003, Βαθμός Απολυτηρίου Λυκείου 19,8

**Προπτυχιακές Σπουδές:** Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών, 2003-2009  
Πτυχίο Ιατρικής 07/2009,  
Βαθμός 7,74 «Λίαν Καλώς»

**Άδεια Άσκησης Ιατρικού Επαγγέλματος:** Αύγουστος 2009

### **ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΕΣ ΣΠΟΥΔΕΣ**

07/2013- 01/2018 Ειδίκευση στην Παθολογία στη Δ΄ Πανεπιστημιακή  
Παθολογική Κλινική, στο Πανεπιστημιακό Γενικό  
Νοσοκομείο «ΑΤΤΙΚόν»  
(Διευθυντής: Καθηγητής Δ. Μπούμπας)

**Απόκτηση Τίτλου Ιατρικής Ειδικότητας Παθολογίας:** Ιούλιος 2018

02/2018-σήμερα	Υποψήφια Διδάκτωρ Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών
10/2019-σήμερα	Συμμετοχή στο πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών της Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών «Λοιμωξιολογία»

---

## ΠΡΟΫΠΗΡΕΣΙΑ

09/2009- 03/2010	Επιστημονικός Συνεργάτης Εργαστηρίου Μεταβολισμού Πρωτεϊνών, Β' Προπαιδευτική Παθολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικών»
21/12/09- 20/12/10	Ιατρός στο Δημοτικό Ιατρείο του Δήμου Γαλασίου
12/2010- 01/2012	Υπηρεσία Υπαίθρου στο Γενικό Παναρκαδικό Νοσοκομείο Τρίπολης «Η Ευαγγελίστρια» και στο Κέντρο Υγείας Άστρους
12/2012- 07/2013	Υπηρεσία Υπαίθρου στο Περιφερικό Ιατρείο Κοσμά Αρκαδίας
07/2013- 01/2018	Ειδίκευση στην Παθολογία στη Δ' Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικών» (Διευθυντής: Καθηγητής Δ. Μπούμπας)
01/2018- 11/2018	Ιατρός Παθολόγος με παραταθείσα σύμβαση στη Δ' Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική, Πανεπιστημιακό Γενικό Νοσοκομείο «Αττικών» (Διευθυντής: Καθηγητής Δ. Μπούμπας)
11/2018- σήμερα	Επιστημονικός Συνεργάτης στη Δ' Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική, στο Ερευνητικό Τμήμα Ανοσολογίας των Λοιμώξεων, ΠΓΝ «Αττικών»

## ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ

- Doulou S, Leventogiannis K, **Tsilika M**, Rodencal M, Katrini K, Antonakos N, Kyprianou M, Karofylakis E, Karageorgos A, Koufargyris P, Christopoulos G, Kassianidis G, Stamatelopoulos K, Newberry R, Giamarellos-Bourboulis EJ. A novel optical biosensor for the early diagnosis of sepsis and severe Covid-19: the PROUD study. *BMC Infect Dis*. 2020 Nov 19;20(1):860. doi: 10.1186/s12879-020-05607-1.
- Azam TU, Shadid HR, Blakely P, O'Hayer P, Berlin H, Pan M, Zhao P, Zhao L, Pennathur S, Pop-Busui R, Altintas I, Tingleff J, Stauning MA, Andersen O, Adami ME, Solomonidi N, **Tsilika M**, Tober-Lau P, Arnaoutoglou E, Keitel V, Tacke F, Chalkias A, Loosen SH, Giamarellos-Bourboulis EJ, Eugen-Olsen J, Reiser J, Hayek SS. Soluble Urokinase Receptor (SuPAR) in COVID-19-Related AKI. *International Study of Inflammation in COVID-19. J Am Soc Nephrol*. 2020 Nov;31(11):2725-2735. doi: 10.1681/ASN.2020060829. Epub 2020 Sep 22.
- Giamarellos-Bourboulis EJ, **Tsilika M**, Moorlag S, Antonakos N, Kotsaki A, Domínguez-Andrés J, Kyriazopoulou E, Gkavogianni T, Adami ME, Damoraki G, Koufargyris P, Karageorgos A, Bolanou A, Koenen H, van Crevel R, Droggiti DI, Renieris G, Papadopoulos A, Netea MG. Activate: Randomized Clinical Trial of BCG Vaccination against Infection in the Elderly. *Cell*. 2020 Oct 15;183(2):315-323.e9. doi: 10.1016/j.cell.2020.08.051. Epub 2020 Sep 1. **Tsilika M**, Antonakos N, Gkavogianni T, Karageorgos A, Kyriazopoulou E, Netea MG, Giamarellos-Bourboulis EJ. Impact of comorbidities on the performance of interferon-gamma release assay in an elderly Greek population without overt immunodeficiency. *Int J Antimicrob Agents*. 2020 Sep;56(3):106073. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.106073. Epub 2020 Jul 3. PMID: 32629117 Clinical Trial.
- Tomos I, **Tsilika M**, Aggelou E, Karageorgas T, Tsiodras S. An 80-Year-Old Man with Hemoptysis and Unilateral Patchy Opacities. *Chest*. 2018 Nov; 154(5):e135-e138. doi: 10.1016/j.chest.2018.05.009.

## ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ ΜΕ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

- **Maria Tsilika**, Nikolaos Antonakos, Theologia Gkavogianni, Evangelos J. Giamarellos-Bourboulis, Mihai G. Netea, Antonios Papadopoulos. Comorbidities as major determinants of positive interferon-gamma releasing assay. 29th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Amsterdam, Apr 2019, (poster presentation)
  - V. Mellou, C. Chrona, A. Kalpaksi, D. Kavatha, **M. Tsilika**, K. Spyrou. CT and MRI pattern of progressive multifocal leucoencephalopathy. European Congress of Radiology, Vienna, 1-5 Mar 2017 (poster presentation)
  - **Maria Tsilika**, Dimitra Kavvatha, George Siakalis, Konstantinos Protopappas, Antonios Papadopoulos, Anastasia Antoniadou. Nephrotic range proteinuria in a patient with HIV infection and a history of intravenous drug abuse: case report and review of the literature. HIV Glasgow Drug Therapy, Glasgow, 23-26 Oct 2016 (poster presentation)
  - P. Halvatsiotis, K.Patsouras, L.Batalias, **M. Tsilika**, P. Dimakou, B. Sioulas, D. Kassanos, G. Dimitriadis. Skeletal muscle myosin heavy chain isoform gene transcript levels in advanced pregnancy with gestational diabetes. 6<sup>th</sup> International Symposium on Diabetes and Pregnancy, Salzburg, 23-26 Mar 2011 (poster presentation)
  - PG. Halvatsiotis, K. Patsouras, M. Vythoulka, **M. Tsilika**, G. Salamalekis, E. Salamalekis, Th. Economopoulos. Placental antioxidant capacity in gestational diabetes. 46<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Association for the Study of Diabetes, Stockholm, 20-24 Sep 2010 (poster presentation)
  - Panagiotis G. Halvatsiotis, Konstantinos Patsouras, Maria Vythoulka, George Salamalekis, **Maria Tsilika**, Emmanuel Salamalekis, Theofanis Economopoulos. Oxidative load and antioxidant enzyme capacity in gestational diabetes. 70<sup>th</sup> Scientific Sessions of the American Diabetes Association, Orlando, 25-29 Jun 2010 (poster presentation)
-

## ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ ΜΕ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

- **Μ. Τσιλικά**, Ν. Αντωνάκος, Θ. Γκαβογιάννη, Α. Πιστίκη, Γ. Μαρίνη, Α. Παπαδόπουλος, Ε.Ι. Γιαμαρέλλος- Μπουρμπούλης. Η επίπτωση της λανθάνουσας φυματίωσης με τη δοκιμασία απελευθέρωσης ιντερφερόνης-γ σε υπερήλικες στην Ελλάδα. 21<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Εσωτερικής Παθολογίας, Αθήνα, 31 Οκτ- 3 Νοε 2018 (προφορική ανακοίνωση)
- **Τσιλικά Μαρία**, Καββαθά Δήμητρα, Σιακαλής Γεώργιος, Πρωτόπαπας Κωνσταντίνος, Παπαδόπουλος Αντώνιος, Αντωνιαδού Αναστασία. Νεφρωσικού τύπου πρωτεϊνουρία σε ασθενή με HIV λοίμωξη και ιστορικό ενδοφλέβιας χρήσης ναρκωτικών ουσιών: παρουσίαση κλινικής περίπτωσης και ανασκόπησης της βιβλιογραφίας. 4<sup>η</sup> Πανελλήνια Συνάντηση AIDS και Ηπατίτιδες, Αθήνα, 29 Σεπ- 1 Οκτ 2016 (αναρτημένη ανακοίνωση)
- Χ. Χριστοδούλου, Δ. Μαργαρίτης, Γ. Μακρής, Ι. Μυτά, Π. Καζάκου, **Μ. Τσιλικά**, Δ. Καββαθά, Χ. Παπαγεωργίου. Κακόηθες νευροληπτικό σύνδρομο από την συγχορήγηση άτυπου αντιψυχωσικού με αντιβιοτικό. 22<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Ψυχιατρικής, Ιωάννινα, 10-13 Απρ 2014 (αναρτημένη ανακοίνωση)
- Π. Χαλβατσιώτης, Κ. Πατσούρας, **Μ. Τσιλικά**, Ε. Δελατόλα, Γ. Σαλαμαλέκης, Ε. Σαλαμαλέκης, Θ. Οικονομόπουλος. Δυσλειτουργία των μιτοχονδρίων στον σκελετικό μυ και στον πλακούντα παρουσία διαβήτη της κύησης. 9<sup>ο</sup> Διεθνές Συνέδριο Παχυσαρκίας, Ηράκλειο, 30-31 Οκτ 2009 (προφορική ανακοίνωση)

---

### ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

Άριστη γνώση της Αγγλικής και Γαλλικής γλώσσας



## ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ

**Εισαγωγή** Ο εμβολιασμός με BCG μειώνει την επίπτωση νέων λοιμώξεων στα παιδιά και βελτιώνει την επιβίωση τους ανεξάρτητα από την πρόληψη της φυματίωσης. Σε αυτό συμβάλει ο σχηματισμός ανοσιακής μνήμης των κυττάρων της μη ειδικής ανοσίας μέσω μηχανισμών επιγενετικής. Η κλινική δοκιμή ACTIVATE-2 είχε ως σκοπό να διερευνήσει αν εμβολιασμός με BCG παρείχε προστασία έναντι της COVID-19 σε ασθενείς υψηλού κινδύνου.

**Μέθοδοι** Σε αυτή την τυχαιοποιημένη, πολυκεντρική, διπλή- τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο μελέτη, άτομα ηλικίας ίσης ή άνω των 50 ετών με ιστορικό στεφανιαίας νόσου ή χρόνιας αποφρακτικής πνευμονοπάθειας ή δείκτη συννοσηροτήτων του Charlson μεγαλύτερο του 3, εμβολιάζονταν είτε με εικονικό φάρμακο είτε με BCG και ήταν υπό παρακολούθηση για 6 μήνες. Το πρωτογενές καταληκτικό σημείο της μελέτης ήταν η επίπτωση της COVID-19 ανάμεσα στις δύο ομάδες στις 90 μέρες από τον εμβολιασμό των συμμετεχόντων και τα δευτερογενή καταληκτικά σημεία ήταν η επίπτωση της COVID-19 στις 135 μέρες και στις 180 μέρες από τον εμβολιασμό τους, ο επιπολασμός των αντισωμάτων έναντι του SARS-CoV-2 στους συμμετέχοντες και η αξιολόγηση των συμπτωμάτων λοίμωξης αναπνευστικού των συμμετεχόντων.

**Αποτελέσματα** Ο εμβολιασμός με BCG μείωσε κατά 68% την επίπτωση της COVID-19 (OR 0.32, 95% CI 0.13-0.79). Από τους συμμετέχοντες που εμφάνισαν σοβαρή COVID-19 και χρειάστηκαν νοσηλεία, πέντε άνηκαν στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου και ένας στην ομάδα του BCG. 3 μήνες μετά τον εμβολιασμό, 1,3% όσων έλαβαν εικονικό φάρμακο και 4,7% όσων εμβολιάστηκαν με BCG είχαν αντισώματα έναντι του SARS-CoV-2.

**Συμπεράσματα** Ο εμβολιασμός με BCG είναι ασφαλής και δρα προστατευτικά έναντι της COVID-19, σε άτομα υψηλού κινδύνου. Ο εμβολιασμός με BCG θα μπορούσε να είναι ένα μέσο προστασίας έναντι της COVID-19 και αναχαίτισης της πανδημίας.

## ΑΓΓΛΙΚΗ ΠΕΡΙΛΗΨΗ

**Introduction** BCG vaccine induces protection against other infectious diseases and reduces infant mortality independently of tuberculosis prevention. These non-specific beneficial effects of BCG are due to epigenetic modifications of innate immune cells which allow them to display adaptive characteristics. The objective of ACTIAVTE-2 was to assess whether BCG vaccination could protect against COVID-19 in elderly.

**Methods** In this multicenter, randomized, double-blinded, placebo controlled clinical trial, participants aged 50 years or more, with medical history of coronary heart disease or chronic obstructive pulmonary disease or Charlson's Comorbidity Index more than 3, were vaccinated with BCG or placebo. The primary outcome was the incidence of COVID-19 between the two groups at 90 days after vaccination. Secondary outcomes were the incidence of COVID-19 at 135 days and at 180 days after vaccination, the prevalence of anti-SARS-CoV-2 antibodies and the evaluation of symptoms of respiratory tract infections among participants.

**Results** BCG vaccination resulted in 68% risk reduction for COVID-19 (OR 0.32, 95% CI 0.13-0.79). Five patients in the placebo group and one in the BCG-vaccinated group had severe COVID-19 that necessitated hospitalization. 3 months after BCG vaccination 1.3% of placebo and 4.7% of BCG-vaccinated volunteers had anti-SARS-CoV-2 antibodies.

**Conclusions** BCG vaccination is safe and reduces the incidence of COVID-19 in elderly. BCG is a potential tool against COVID-19 pandemic.

## ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### 1. ΤΟ ΕΜΒΟΛΙΟ BCG ΚΑΙ ΟΙ ΠΛΕΙΟΤΡΟΠΙΚΕΣ ΤΟΥ ΔΡΑΣΕΙΣ

Το εμβόλιο *Bacillus Calmete- Guérin* (BCG) δημιουργήθηκε στις αρχές του 20<sup>ου</sup> αιώνα, στο Ινστιτούτο Παστέρ στο Παρίσι, με σκοπό τη χορήγηση του για την αντιμετώπιση της φυματίωσης. Είναι ζων εξασθενημένο εμβόλιο και αναπτύχθηκε από το *Mycobacterium bovis*. Έκτοτε έως σήμερα, είναι το εμβόλιο που έχει χορηγηθεί περισσότερο από κάθε άλλο και υπολογίζεται ότι 130 εκατομμύρια παιδιά εμβολιάζονται με BCG κάθε χρόνο παγκοσμίως. Ενδιαφέρον προκαλεί ότι μετά την έναρξη χορήγησης του, το 1921 στην Ευρώπη, επιδημιολογικές μελέτες κατέδειξαν ότι ο εμβολιασμός με BCG μείωσε σημαντικά τα ποσοστά παιδικής θνητότητας, εύρημα που δεν μπορούσε να αποδοθεί μόνο στην προστατευτική του δράση έναντι της φυματίωσης (1). Στην πορεία, νέες τυχαίοποιημένες μελέτες έδειξαν ότι ο εμβολιασμός με BCG μείωνε κατά 50% την παιδική θνητότητα και η προστασία αυτή οφείλονταν στη μείωση των λοιμώξεων αναπνευστικού στα παιδιά και στη μείωση των περιπτώσεων σήψης στα νεογνά (2). Επιπλέον, μια ακόμα μελέτη στη Guinea-Bissau έδειξε ότι ο εμβολιασμός με BCG στα παιδιά μείωσε την επίπτωση λοιμώξεων αναπνευστικού από τον αναπνευστικό συγκυτιακό ιό (3). Παρόμοια αποτελέσματα προστατευτικής δράσης του BCG έναντι λοιμώξεων αναπνευστικού φάνηκαν σε μελέτες που διεξάχθηκαν σε ηλικιωμένους ενήλικες στην Ινδονησία (4), σε ασθενείς με αρνητική φυματινοαντίδραση στην Ιαπωνία (5) και σε εφήβους στη Νότια Αφρική (6). Ιδιαίτερα στους τελευταίους διαπιστώθηκε 70% μείωση των περιπτώσεων λοιμώξεων αναπνευστικού μετά από εμβολισμό με BCG (6).

Τα ευρήματα αυτά οδήγησαν πολλούς ερευνητές στον σχεδιασμό πειραματικών μελετών με σκοπό την αποσαφήνιση των μηχανισμών μέσω των οποίων το BCG επάγει την προστατευτική του δράση. Σε πειραματικό μοντέλο σε μύες, ο εμβολιασμός με BCG μείωσε την ιαιμία από τον ιό της γρίπης Α, μέσω της δράσης των μακροφάγων (7). Επιπλέον, ο εμβολιασμός με BCG προστάτευσε από νόσηση με ερπητοϊό τύπου 2 μύες (8) και ομοίως, σε άλλη μελέτη σε μύες, η υποδόρια χορήγηση συστατικού του τοιχώματος μυκοβακτηριδίου είχε προστατευτική δράση έναντι λοίμωξης από τον ιό της ευλογίας και από ερπητοϊό τύπου 2 (9). Στα ανωτέρω πειράματα, καθοριστικό ρόλο στην προστατευτική δράση του BCG είχαν τα

μακροφάγα του περιτοναίου, εύρημα που υποδηλώνει την ισχυρή δράση του BCG στη μη ειδική ανοσία του ξενιστή. Επιπρόσθετα, σε μια άλλη μελέτη, η ενδοφλέβια χορήγηση BCG σε μύες οδήγησε σε αυξημένη παραγωγή κυτταροκινών τόσο από τα σπληνοκύτταρα τους όσο και από τα μακροφάγα του περιτοναίου τους, μετά από την ex vivo διέγερση αυτών των κυττάρων με διαφορετικά παθογόνα (10).

Μετά από αυτές τις παρατηρήσεις ξεκίνησε μια προσπάθεια διεύρυνσης των μοριακών και κυτταρικών μηχανισμών μέσω των οποίων το BCG δρα προστατευτικά έναντι ιογενών και βακτηριακών λοιμώξεων (11). Ο εμβολιασμός υγιών εθελοντών με BCG είχε σαν αποτέλεσμα την αυξημένη παράγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών, όπως η ιντερλευκίνη 1β, η ιντερλευκίνη 6 και ο παράγοντας νέκρωσης όγκων, από τα μονοκύτταρα τους μετά από ex vivo διέγερση αυτών των κυττάρων με διαφορετικά παθογόνα (12). Παρόμοια ευρήματα σε υγιείς εθελοντές που εμβολιάστηκαν με BCG, συνοδεύονταν από μεταγραφικό, επιγενετικό και μεταβολικό επαναπρογραμματισμό κυττάρων της μυελικής σειράς. Οι επιγενετικές αλλαγές εκφράζονταν με τη μορφή χημικών τροποποιήσεων σε ιστόνες (μεθυλίωση και ακετυλίωση), και είχαν σαν αποτέλεσμα την καλύτερη προσβασιμότητα της χρωματίνης, την ευκολότερη μετάφραση των γονιδίων που είναι απαραίτητα στη διαδικασία αντιμετώπισης παθογόνων μικροοργανισμών και την καλύτερη λειτουργία των κυττάρων (13). Ο μεταβολικός επαναπρογραμματισμός οδηγούσε σε αλλαγές στην συγκέντρωση ορισμένων μεταβολιτών που συμμετείχαν σε αυτή την διαδικασία και δρούσαν ως συμπαραγόντες για πολλά ένζυμα που μεσολαβούν στις επιγενετικές αλλαγές (13).

## **2. Η ΑΝΟΣΙΑΚΗ ΑΠΑΝΤΗΣΗ ΤΟΥ ΞΕΝΙΣΤΗ ΕΝΑΝΤΙ ΤΩΝ ΠΑΘΟΓΟΝΩΝ**

Η μη ειδική ανοσία είναι η πρώτη γραμμή άμυνας των οργανισμών έναντι των παθογόνων. Κύτταρα της μυελικής σειράς όπως ουδετερόφιλα, μακροφάγα και μονοκύτταρα και κύτταρα της λεμφικής σειράς όπως τα κύτταρα φυσικοί φονείς και τα γδ T κύτταρα συμβάλουν στην ενεργοποίηση του μηχανισμού άμυνας κατά τη διάρκεια μιας λοίμωξης και είναι σε θέση να αντιμετωπίσουν την συντριπτική πλειοψηφία των παθογόνων στα οποία ερχόμαστε σε επαφή καθημερινά. Τα κύτταρα της λεμφικής σειράς ενεργοποιούνται μόνο όταν ο οργανισμός προσβάλλεται από μεγάλο αριθμό παθογόνων μικροοργανισμών που δεν μπορούν να αντιμετωπιστούν από την πρώτη γραμμή άμυνας, την μη ειδική ανοσία ή όταν

πρόκειται για πολύ διηθητικούς μικροοργανισμούς. Στις περιπτώσεις αυτές ενεργοποιείται η ειδική ανοσία με τα T και B κύτταρα. Για πολλά χρόνια υπήρχε η πεποίθηση ότι μόνο τα κύτταρα της ειδικής ανοσίας είχαν μνήμη και μπορούσαν να προστατεύσουν σε περίπτωση επαναλοίμωξης. Αυτή η πεποίθηση ήταν η βασική αρχή του εμβολιασμού: μέσω του εμβολιασμού αναπτύσσονται β λεμφοκύτταρα μνήμης ικανά να παράγουν γρήγορα και επαρκώς αντισώματα μετά από επανέκθεση στο ίδιο παθογόνο. Αυτή η διαδικασία αποτελεί την μνημονική λειτουργία του ειδικού σκέλους του ανοσιακού συστήματος. Εντούτοις, μεγάλος αριθμός μελετών έχουν δείξει ότι κύτταρα της μη ειδικής ανοσίας αποκτούν χαρακτηριστικά ειδικής ανοσίας μετά από κάποιες λοιμώξεις ή εμβολιασμούς και μπορούν να δημιουργήσουν μια ανοσιακή μνήμη. Αυτή η ενίσχυση της λειτουργίας των ανοσιακών κυττάρων μετά από κατάλληλη προέκθεση σε ερεθίσματα τελείως διαφορετικά από τα παθογόνα ονομάζεται εκπαιδευμένη ανοσία (trained immunity) (14). Οι μοριακοί μηχανισμοί μέσω των οποίων γίνεται ο μακροχρόνιος επαναπρογραμματισμός των κυττάρων της μη ειδικής ανοσίας, όπως των μονοκυττάρων, των μακροφάγων και των κυττάρων φυσικοί φονείς είναι μηχανισμοί επιγενετικής (14).

### **3. BCG ΚΑΙ ΕΚΠΑΙΔΕΥΜΕΝΗ ΑΝΟΣΙΑ**

Το εμβόλιο που έχει περισσότερο μελετηθεί για την επαγωγή της εκπαιδευμένης ανοσίας είναι το BCG. Πιο συγκεκριμένα, θεωρείται ότι το BCG οδηγεί, μέσω της επιγενετικής, στον σχηματισμό εκπαιδευμένων μονοκυττάρων και/ ή κυττάρων φυσικούς φονείς, τα οποία βρίσκονται κυρίως στο μυελό των οστών. Μετά την έκθεση σε ένα παθογόνο και πολύ πριν η ειδική ανοσία κινητοποιηθεί, το παθογόνο αναγνωρίζεται κατάλληλα από το μη ειδικό σκέλος του ανοσιακού συστήματος, μέσω δομών γνωστών ως μοριακές δομές που σχετίζονται με τα παθογόνα (MΔΣΠ, pathogen-associated molecular patterns) και σαν αποτέλεσμα τα κύτταρα της μη ειδικής ανοσίας ενεργοποιούνται και ευνοούν την απάντηση του ξενιστή.

Το φαινόμενο αυτό θα μπορούσε να εξηγήσει τον τρόπο που ο εμβολιασμός με BCG προστατεύει από πολλά παθογόνα. Σε μια πρόσφατη μελέτη υγιών εθελοντών, ο εμβολιασμός με BCG μείωσε την ιαιμία μετά από εμβολιασμό έναντι του ιού του κίτρινο πυρετού. Η ανοσιακή απάντηση φάνηκε ότι οφείλεται σε αλλαγές μέσω επιγενετικής στα μονοκύτταρα και έχει ως αποτέλεσμα την καλύτερη αντιική

απάντηση των οργανισμών (15). Επομένως, τα ανωτέρω ευρήματα οδηγούν στο συμπέρασμα ότι ο εμβολιασμός με BCG επάγει την εκπαιδευμένη ανοσία και προσφέρει σημαντική προστασία έναντι πολλαπλών ιογενών λοιμώξεων.

## ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

### 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τον Δεκέμβριο 2019, ένας καινούργιος RNA βήτα- κορωνοϊός ανιχνεύθηκε σε ασθενή με πνευμονία στη Wuhan, την πρωτεύουσα της επαρχίας Hubei, στην Κίνα (16). Ο ιός ονομάστηκε SARS- CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2) και η νόσος που προκαλεί είναι η COVID-19 (Coronavirus Disease-19). Ο ιός γρήγορα εξαπλώθηκε σε όλες τις ηπείρους, προκαλώντας πανδημία και έχοντας προκαλέσει το θάνατο σε σχεδόν 4.000.000 ανθρώπους και τη νόσηση σε περισσότερους από 180.000.000 ασθενείς έως τη μέρα συγγραφής της παρούσας εργασίας (17).

Τα εμβόλια αποτελούν την πιο αποτελεσματική μέθοδο πρόληψης μια νέας λοίμωξης και το πιο σημαντικό μέσο αναχαίτισης μιας πανδημίας. Μεγάλη προσπάθεια έχει γίνει προς την κατεύθυνση ανάπτυξης νέων εμβολίων εναντίον του ιού SARS- CoV-2. Από τις αρχές του 2021 πολλά εμβόλια έχουν δημιουργηθεί χρησιμοποιώντας είτε παλαιότερες τεχνικές ανάπτυξης εμβολίων, είτε νεώτερες μεθόδους (18). Ήδη, εμβολιαστικά προγράμματα έχουν ξεκινήσει να εφαρμόζονται στις περισσότερες χώρες παγκοσμίως και στις περιπτώσεις εμβολιασμού σημαντικού μέρους του πληθυσμού, τα ευεργετικά αποτελέσματα έχουν αρχίσει να εμφανίζονται, με τη μείωση των θανάτων, των νοσηλειών και της βαριάς νόσησης από COVID-19 και κατ'επέκταση την άρση των μέτρων προφύλαξης (19). Εντούτοις, επιδημιολογικές μελέτες για εμβολιασμό του μεγαλύτερου μέρους του πληθυσμού παγκοσμίως (>70%) ώστε να επικρατήσει η ανοσία της αγέλης κρίνουν ότι θα χρειαστούν 2-3 χρόνια ώστε να πετύχουμε αυτόν τον στόχο, λαμβάνοντας υπόψιν και τις ελλείψεις σε εμβόλια που εμφανίζονται σε πολλές χώρες.

Οι δυσκολίες που προκύπτουν στην προσπάθεια για γρήγορη σχεδίαση, παραγωγή και διάθεση νέων εμβολίων, θα μπορούσαν να αντιρροπιστούν από παλαιότερα εμβόλια που θα προσφέρουν μερική προφύλαξη. Το εμβόλιο BCG αναπτύχθηκε για την πρόληψη της φυματίωσης, αλλά επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει την προστασία που προσφέρει και για άλλες λοιμώδεις ασθένειες (20). Την υπόθεση ότι το BCG μπορεί να προστατέψει από την νόσο COVID-19, υποστηρίζουν κάποιες μελέτες που καταδεικνύουν τη σχέση εμβολιασμού με BCG σε παιδική ηλικία και το χαμηλό επιπολασμό της COVID-19 (21,22). Επιπλέον

αναδρομικές μελέτες δείχνουν ότι προηγούμενος εμβολιασμός με BCG είναι ασφαλής στη COVID-19 και πιθανά να δρα προστατευτικά ως προς τη βαρύτητά της (23,24).

Η μελέτη ACTIVATE-2 (A randomized Clinical trial for enhanced Trained Immune responses through Bacillus Calmette-Guérin Vaccination to prevent infections by COVID-19) είναι μια κλινική δοκιμή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο, η οποία διενεργήθηκε για να διερευνήσει αν εμβολιασμός με BCG ασθενών υψηλού κίνδυνου για την COVID-19 θα είχε προστατευτική δράση έναντι αυτής της νόσου. Ο σχεδιασμός της μελέτης βασίστηκε στα αποτελέσματα της ενδιάμεσης ανάλυσης της μελέτης ACTIVATE, τα οποία πρόσφεραν ένα στέρεο επιστημονικό έρισμα υπέρ αυτής της υπόθεσης. Η μελέτη ACTIVATE (A randomized Clinical trial for enhanced Trained Immune responses through Bacillus Calmette-Guérin Vaccination to prevent infections of the Elderly) ήταν μια προοπτική, πολυκεντρική, τυχαιοποιημένη, ελεγχόμενη μελέτη μεταξύ ασθενών νοσηλευόμενων στην Δ΄ Παθολογική Κλινική του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου ΑΤΤΙΚΟΝ. Σε αυτήν την μελέτη νοσηλευόμενοι ασθενείς ηλικίας ίσης ή μεγαλύτερης των 65 ετών εμβολιάζονταν την ημέρα του εξιτηρίου τους με μία δόση εικονικού φαρμάκου ή BCG. Κάθε ασθενής ακολούθως παρέμενε υπό παρακολούθηση για 12 μήνες. Η τελευταία επίσκεψη του τελευταίου ασθενούς έχει προγραμματιστεί για τον Αύγουστο του 2020. Τον Απρίλιο του 2020 έλαβε χώρα μια ενδιάμεση ανάλυση από ανεξάρτητη επιτροπή ειδικών. Η πλήρης ενδιάμεση ανάλυση εστίασε στο πρωτογενές καταληκτικό σημείο που αφορούσε συγκριτικά στο χρονικό διάστημα μεταξύ της πρώτης λοίμωξης μετά την έξοδο από το νοσοκομείο ανάμεσα στις δύο ομάδες μελέτης. Οι λοιμώξεις που προσμετρούνταν στην επίτευξη του πρωτογενούς καταληκτικού σημείου ήταν αναπνευστικές λοιμώξεις πιθανώς ιογενούς αιτιολογίας που έχρηζαν θεραπευτικής αγωγής, πνευμονίες της κοινότητας, νοσοκομειακές πνευμονίες, ενδοκοιλιακές λοιμώξεις, λοιμώξεις ουροποιητικού, λοιμώξεις μαλακών μορίων και βακτηριαίμιες. Η ανάλυση κατέδειξε 54% μείωση της επίπτωσης των νέων λοιμώξεων στην ομάδα που έλαβε BCG σε σχέση με την ομάδα που έλαβε εικονικό φάρμακο. Αυτή η μείωση άγγιξε το 80% για το σύνολο των αναπνευστικών λοιμώξεων. Η πολυπαραγοντική ανάλυση έδειξε ότι μεγαλύτερη ωφέλεια είχαν οι ασθενείς με στεφανιαία νόσο και χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια ((25). Η ανωτέρω ενδιάμεση ανάλυση ενισχύει την υπόθεση ότι ο εμβολιασμός με BCG μπορεί να δρα προστατευτικά έναντι της λοίμωξης COVID-19, ιδιαίτερα σε ασθενείς με ιστορικό χρόνιας αποφρακτικής



πνευμονοπάθειας ή/ και στεφανιαία νόσο ή/ και με δείκτη συννοσηροτήτων του Charlson μεγαλύτερο του 3. Τα ανωτέρω αποτελέσματα χρησιμοποιήθηκαν για τον σχεδιασμό της μελέτης ACTIVATE-2.

## **2. ΜΕΘΟΔΟΙ**

### **I. ΚΛΙΝΙΚΗ ΔΟΚΙΜΗ**

Η κλινική δοκιμή ACTIVATE-2 είναι μια προοπτική, τυχαιοποιημένη, διπλά τυφλή, ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο, φάσης III κλινική δοκιμή που διενεργήθηκε στο γενικό πληθυσμό σε 11 κλινικές εσωτερικής παθολογίας στην Ελλάδα. Το πρωτόκολλο της κλινικής δοκιμής και οι μετεπειτα τροποποιήσεις του εγκρίθηκαν από την Εθνική επιτροπή Δεοντολογίας (έγκριση 52/20) και από τον Εθνικό οργανισμό φάρμακων (έγκριση IS 045-20) (EudraCT number 2020-002448-21;Clinicaltrial.gov NCT04414267). Οι ερευνητές δεν γνώριζαν το είδος της παρέμβασης που έγινε σε κάθε ασθενή μέχρι και την 28<sup>η</sup> Απριλίου 2021, όποτε και «κλειδώθηκε» η καταγραφή των δεδομένων.

### **II. ΑΣΘΕΝΕΙΣ**

Οι συμμετέχοντες στην κλινική δοκιμή είχαν ενημερωθεί για την κλινική δοκιμή από ανακοινώσεις στα μέσα μαζικής ενημέρωσης ή μέσω αναρτήσεων στα κέντρα που συμμετείχαν στην κλινική δοκιμή. Οι συμμετέχοντες έπρεπε να είναι ίσοι ή άνω των 50 ετών, και να έχουν ιστορικό στεφανιαίας νόσου ή/ και χρόνιας αποφρακτικής πνευμονοπάθειας ή/και να έχουν δείκτη συννοσηροτήτων του Charlson μεγαλύτερο του 3. Επιπλέον οι συμμετέχοντες έπρεπε να έχουν δερματική φυματινοαντίδραση μικρότερη από 10mm και αρνητικό τεστ αντισωμάτων IgG και IgM για SARS-CoV-2. Τα κριτήρια αποκλεισμού ήταν: λοίμωξη από τον ιο HIV-1, πρωτοπαθής ανοσοανεπάρκεια, μεταμόσχευση συμπαγούς οργάνου, μεταμόσχευση μυελού των οστών, λήψη χημειοθεραπείας τους τελευταίους 2 μήνες, λήψη ακτινοθεραπείας τους τελευταίους 2 μήνες, ενεργός αιματολογική κακοήθεια ή κακοήθεια συμπαγούς οργάνων, λήψη αντικυτταροκινών, λήψη από του στόματος ή ενδοφλεβίων κορτικοστεροειδών σε δόση ισοδύναμη με 10mg πρεδνιζολόνης ή περισσότερο για περισσότερο από 3 μήνες. Όλοι οι ασθενείς ή οι νόμιμοι εκπρόσωποι τους παρείχαν έγγραφη συγκατάθεση πριν την ένταξη τους στην κλινική δοκιμή

### III. ΠΑΡΕΜΒΑΣΕΙΣ ΤΗΣ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΔΟΚΙΜΗΣ

Στους υποψήφιους συμμετέχοντες, μετά από έγγραφη συγκατάθεση τους για την συμμετοχή τους στη μελέτη, γινόταν ανασκόπηση του ατομικού τους αναμνηστικού. Σε όσους πληρούσαν τα κριτήρια εισόδου και δεν πληρούσαν τα κριτήρια αποκλεισμού, γίνονταν η δερματική φυματινοαντιδραση, με ενδοδερμική έγχυση 0,1ml φυμαίνης στην έσω επιφάνεια του αντιβραχίου. Οι συμμετέχοντες επανέρχονταν για την αξιολόγηση την φυματινοαντιδρασης σε 48-72 ώρες. Σε περίπτωση που η διάμετρος της σκληρίας ήταν λιγότερο από 10mm, πραγματοποιούνταν μέτρηση anti-SARS CoV-2 IgG/IgM αντισωμάτων σε τριχοειδικό αίμα χρησιμοποιώντας αντιδραστήριο ταχείας μέτρησης της WIZ Biotech. Οι συμμετέχοντες με αρνητικό τεστ αντισωμάτων προχωρούσαν στον εμβολιασμό. Ο εμβολιασμός γινόταν με ενδοδερμική έγχυση είτε με 0,1ml φυσιολογικού ορού 0,9% ή με 0,1ml εμβολίου BCG. Το εμβόλιο BCG είναι ζων εξασθενημένο (Bacillus Calmette Guerin Moscow strain 361-I) και σε κάθε 0,1ml περιέχονται 2 έως  $8 \times 10^5$  μονάδες μικροοργανισμών που σχηματίζουν αποικίες. Η ενδοδερμική έγχυση φυσιολογικού ορού (εικονικού φαρμάκου) ή BCG (ενεργού εμβολίου) γινόταν στην περιοχή του δελτοειδή μυ και η μέρα εμβολιασμού γινόταν την μέρα της πρώτης επίσκεψη της μελέτης.

Μετά τον εμβολιασμό, οι ασθενείς επαναξιολογούνταν στο κεντρο της μελέτης 4 φορές ακόμα (επίσκεψη 2 μετά από  $45 \pm 5$  μέρες από την επίσκεψη 1, επίσκεψη 3 μετά από  $90 \pm 5$  μέρες από την επίσκεψη 1, επίσκεψη 4, μετά από  $135 \pm 5$  μέρες από την επίσκεψη 1, επίσκεψη μελέτης 5 μετά από  $180 \pm 5$  μέρες από την επίσκεψη 1). Οι επισκέψεις 2, 4 και 5 μπορούσαν να γίνουν και μετά από τηλεφωνική επικοινωνία με τους συμμετέχοντες στη μελέτη. Σε κάθε επίσκεψη της μελέτης, οι ασθενείς ελέγχονταν για παρουσία ανεπιθύμητων συμβαμάτων και για την περίπτωση διάγνωσης COVID-19 επιβεβαιωμένης με θετική μοριακή μέθοδο. Οι ασθενείς αυτοί θεωρούνταν ότι είχαν επιβεβαιωμένη λοίμωξη από COVID-19. Στην συνέχεια οι συμμετέχοντες απαντούσαν σε ερωτηματολόγιο σχετικά με την εμφάνιση συμπτωμάτων που σχετίζονται με τη COVID-19 (Πίνακας 1). Αναλόγως του συνδυασμού των θετικών απαντήσεων τους, κατατάσσονται σε πιθανή ή ενδεχόμενη COVID-19. Τέλος, κατά την επίσκεψη 3, ο ασθενής υποβάλλονταν εκ νέου σε ταχύ έλεγχο αντισωμάτων IgG/ IgM έναντι του ιου SARS- CoV-2.

## Πίνακας 1. Ερωτηματολόγιο σχετικά με την εμφάνιση ενδεχόμενης/πιθανής/ επιβεβαιωμένης COVID-19

<ul style="list-style-type: none"><li>• Συμπτώματα που πιθανά σχετίζονται με τη COVID-19</li></ul>
Βήχας για περισσότερο από 48 ώρες χωρίς άλλα συνοδά συμπτώματα Δύσπνοια για περισσότερο από 48 ώρες χωρίς άλλα συνοδά συμπτώματα Πυρετός > 38° C για περισσότερο από 48 ώρες χωρίς άλλα συνοδά συμπτώματα Απόχρεμψη για περισσότερο από 48 ώρες χωρίς άλλα συνοδά συμπτώματα
<ul style="list-style-type: none"><li>• Συμπτώματα που ενδεχομένως σχετίζονται με τη COVID-19</li></ul>
Βήχας και δύσπνοια για περισσότερο από 48 ώρες Βήχας και πυρετός για περισσότερο από 48 ώρες Πυρετός και δύσπνοια για περισσότερο από 48 ώρες Πυρετός και απόχρεμψη για περισσότερο από 48 ώρες Ανάγκη εισαγωγής στο τμήμα επειγόντων περιστατικών οποιουδήποτε νοσοκομείου Ανάγκη λήψης αντιμικροβιακής αγωγής
<ul style="list-style-type: none"><li>• Επιβεβαιωμένη COVID-19</li></ul>
Διάγνωση COVID-19 με μοριακή εξέταση

### IV. ΠΡΩΤΟΓΕΝΕΣ ΚΑΤΑΛΗΚΤΙΚΟ ΣΗΜΕΙΟ

Χρονικά έχει οριστεί στην επίσκεψη 3 ( $90 \pm 5$  μέρες από την επίσκεψη 1) και θεωρείται ότι το έχουν πετύχει οι συμμετέχοντες που είτε έχουν επιβεβαιωμένη με μοριακή μέθοδο COVID-19 έως την επίσκεψη 3, είτε έχουν απαντήσει θετικά και στις 4 ερωτήσεις συμπτωμάτων που πιθανά σχετίζονται με τη νόσο COVID-19 έως την επίσκεψη 3, είτε έχουν απαντήσει θετικά σε τουλάχιστον 2 ερωτήσεις που πιθανά σχετίζονται με τη COVID-19 και επιπλέον έχουν απαντήσει θετικά στην ερώτηση « ανάγκη εισαγωγής στο τμήμα επειγόντων περιστατικών οποιουδήποτε νοσοκομείου» και/ ή στην ερώτηση « ανάγκη λήψης αντιμικροβιακής αγωγής» είτε έχουν απαντήσει θετικά σε τουλάχιστον 4 ερωτήσεις που ενδεχομένως σχετίζονται με τη νόσο COVID-19, μια εκ των οποίων είναι η ερώτηση « ανάγκη εισαγωγής στο τμήμα επειγόντων περιστατικών οποιουδήποτε νοσοκομείου» και/ ή στην ερώτηση « ανάγκη λήψης αντιμικροβιακής αγωγής» και τέλος, είτε έχουν θετικό έλεγχο αντισωμάτων IgM ή IgG έναντι του ιού SARS- CoV-2 στην επίσκεψη 3.

## V. ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΗ ΚΑΤΑΛΗΚΤΙΚΑ ΣΗΜΕΙΑ

Περιλαμβάνουν την επίπτωση εμφάνισης νόσου COVID-19 όπως ορίζεται στο πρωτογενές καταληκτικό σημείο για τις μέρες  $135 \pm 5$  μετά τον εμβολιασμό και για τις μέρες  $180 \pm 5$  μετά τον εμβολιασμό. Επιπλέον στο δευτερογενή καταληκτικά σημεία περιλαμβάνεται ο επιπολασμός των IgG και IgM αντισωμάτων έναντι του ιού SARS-CoV-2 στο σύνολο των ασθενών που έχουν ολοκλήρωση την διαδικασία έλεγχου της επιλεξιμότητας και η αναλυτική αξιολόγηση του ερωτηματολογίου συμπτωμάτων αναπνευστικού σε κάθε επίσκεψη της μελέτης.

Όλοι οι ασθενείς ελέγχονταν κατά τη διάρκεια της κλινικής δοκιμής για την εμφάνιση ανεπιθύμητων ενεργειών/ συμβάντων (ΑΕ) και σοβαρών ανεπιθύμητων ενεργειών/ συμβάντων (ΣΑΕ). Ως ΑΕ ορίστηκε οποιοδήποτε μη επιθυμητό ιατρικό σύμβαμα σε έναν ασθενή που έλαβε ένα φαρμακευτικό προϊόν και το οποίο δεν είχε απαραίτητως αιτιώδη συνάφεια με αυτή τη θεραπεία. Το ανεπιθύμητο συμβάν μπορεί να ήταν ένα σημείο, ένα σύμπτωμα ή ένα μη φυσιολογικό εργαστηριακό εύρημα. Εάν ένα ανεπιθύμητο συμβάν/ανεπιθύμητη ενέργεια πληρούσε οποιοδήποτε από τα ακόλουθα κριτήρια, θεωρήθηκε σοβαρό ανεπιθύμητο συμβάν/σοβαρή ανεπιθύμητη ενέργεια:

- Απειλητική για τη ζωή κατάσταση: Ο ασθενής κινδύνεψε να καταλήξει κατά τη στιγμή του ανεπιθύμητου συμβάματος. Δεν αναφέρεται στον υποθετικό κίνδυνο θανάτου, εάν το ανεπιθύμητο σύμβαμα ήταν πιο σοβαρό ή εξελισσόταν.
- Νοσηλεία στο νοσοκομείο ή παράταση της προϋπάρχουσας νοσηλείας.
- Επίμονη ή σημαντική αναπηρία / ανικανότητα: Δεν περιλαμβάνεται η παροδική διακοπή των καθημερινών δραστηριοτήτων.
- Συγγενής ανωμαλία / γενετικές ανωμαλίες: Οποιοσδήποτε δομικές ανωμαλίες στους απογόνους του ατόμου που συμβαίνουν μετά από έκθεση του ενδομητρίου στη θεραπεία.
- Σημαντικά ιατρικά συμβάματα / εμπειρίες που δεν μπορούν να οδηγήσουν σε θάνατο, να απειλήσουν τη ζωή ή να απαιτήσουν νοσηλεία σε νοσοκομείο μπορεί να θεωρηθούν ως σοβαρή ανεπιθύμητη ενέργεια / εμπειρία όταν, με βάση την κατάλληλη ιατρική κρίση, μπορεί να έθεσαν σε κίνδυνο το άτομο και μπορεί να χρειάστηκαν ιατρική ή χειρουργική αντιμετώπιση προκειμένου να αποτραπεί ένα από τα παραπάνω αποτελέσματα, δηλαδή θάνατος,

απειλητική για τη ζωή ανεπιθύμητη ενέργεια / εμπειρία, νοσηλεία σε νοσοκομείο ή παράταση της υφιστάμενης νοσηλείας, μόνιμη ή σημαντική αναπηρία / ανικανότητα ή συγγενής ανωμαλία.

- Αυτόματες και εκλεκτικές αποβολές.

Η σοβαρότητα των ανεπιθύμητων συμβαμάτων ταξινομήθηκε ως εξής:

- Ήπιο ανεπιθύμητο σύμβαμα ήταν παροδικό και καλά ανεκτό από τον ασθενή.
- Μέτριο ανεπιθύμητο σύμβαμα προκαλούσε δυσφορία και επηρέαζε τις συνήθειες δραστηριότητες του ασθενούς.
- Βαρύ Η βαρύτητα των ανεπιθύμητων συμβαμάτων επηρέαζε σε σημαντικό βαθμό τις συνήθειες δραστηριότητες του ασθενούς και μπορούσε να προκαλέσει αναπηρία ή να απειλήσει τη ζωή του.

Η συσχέτιση των ΑΕ με την παρέμβαση αξιολογήθηκε ως εξής:

- Πιθανώς Σχετιζόμενο: Το ανεπιθύμητο σύμβαμα είχε ισχυρή χρονική σχέση με το φάρμακο ή υποτροπίασε όταν επαναχορηγήθηκε και οποιαδήποτε άλλη αιτιολογία ήταν απίθανη ή σαφώς λιγότερο πιθανή.
- Ενδεχομένως Σχετιζόμενο: Το ανεπιθύμητο σύμβαμα είχε ισχυρή χρονική σχέση με το φάρμακο και ένα διαφορετικό αίτιο ήταν πιθανό ή λιγότερο πιθανό.
- Πιθανώς μη Σχετιζόμενο : Το ανεπιθύμητο σύμβαμα είχε μικρή ή καθόλου χρονική σχέση με το φάρμακο και / ή υπήρχε πιο πιθανό εναλλακτικό αίτιο.
- Μη Σχετιζόμενο : Το ανεπιθύμητο σύμβαμα οφειλόταν σε υποκείμενη ή συνακόλουθη ασθένεια ή σε άλλο φαρμακευτικό προϊόν και δεν σχετιζόταν με το φάρμακο (καμία χρονική σχέση και πολύ πιο πιθανή εναλλακτική αιτιολογία).

## VI. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Οι ποιοτικές μεταβλητές παρουσιάστηκαν ως ποσοστά επί τις εκατό και οι ποσοτικές μεταβλητές ως μέσες  $\pm$  τυπική απόκλιση (SD). Οι συγκρίσεις μεταξύ των δύο ομάδων έγιναν με την ακριβή δοκιμασία Fisher. Ο λόγος πιθανοτήτων (odds ratio, OR) και τα 95% όρια αξιοπιστίας υπολογίστηκαν με την ανάλυση Mantel and Haenszel's. Κάθε τιμή του κριτηρίου  $p$  μικρότερη από 0,05 θεωρήθηκε στατιστικά σημαντική.

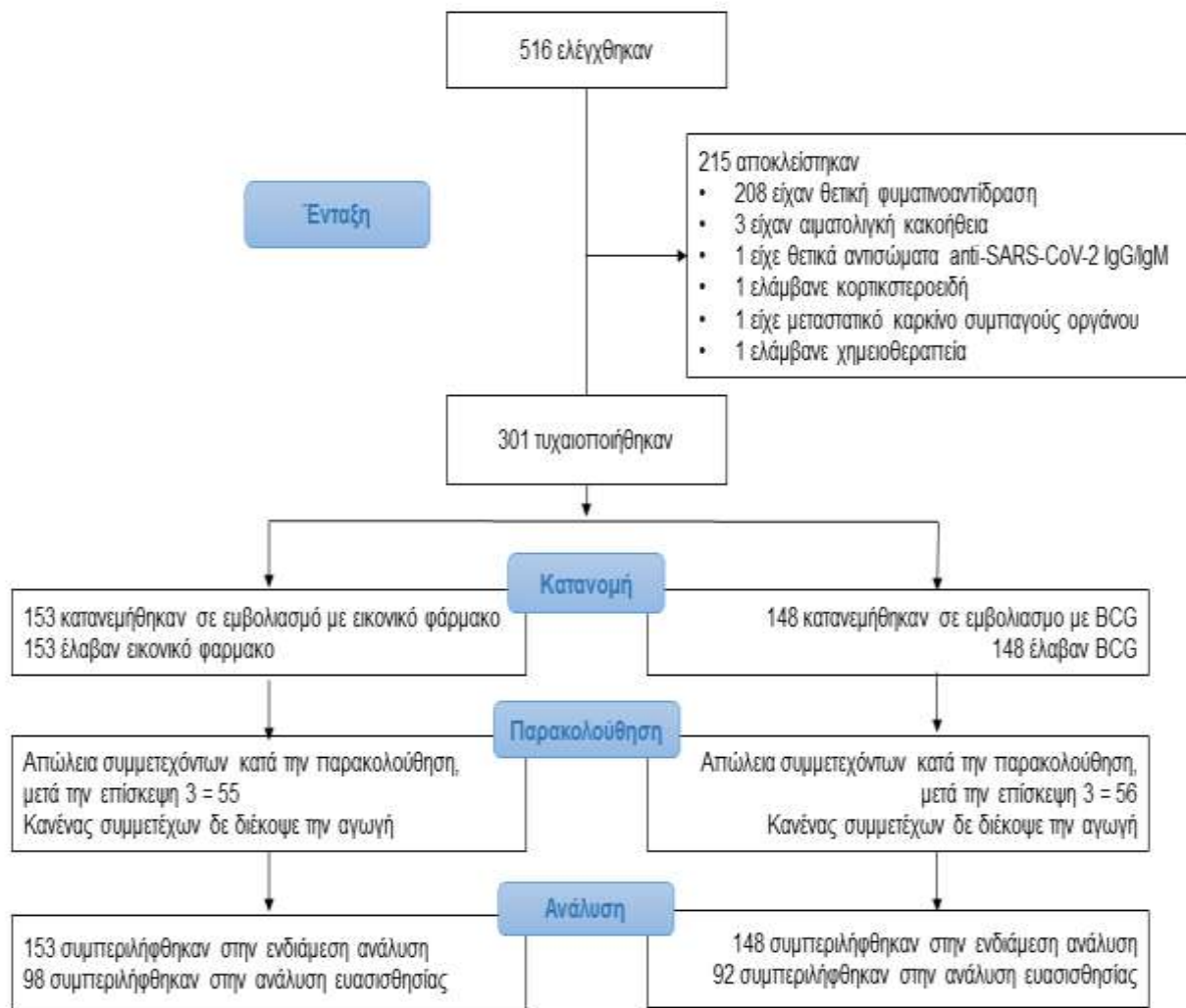
### 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

#### I. ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Από τον Ιούνιο 2020 έως τον Οκτώβριο 2020 σε συνολικά 516 συμμετέχοντες έγινε έλεγχος επιλεξιμότητας για την ένταξη τους στην κλινική δοκιμή. Ο πρώτος ασθενής εντάχθηκε στις 6 Ιουνίου 2020 και η παρακολούθηση του τελευταίου ασθενή ολοκληρώθηκε στις 19 Απριλίου 2021. Μετά τον Οκτώβριο 2020 δεν υπήρχαν υποψήφιοι συμμετέχοντες στην κλινική δοκιμή, καθώς είχε ξεκινήσει η αναγγελία των επικείμενων εμβολιαστικών προγραμμάτων για τον ιό SARS-CoV-2 στο γενικό πληθυσμό.

Μεταξύ των συμμετεχόντων, 215 αποκλείστηκαν λόγω θετικής δοκιμασίας φυματινοαντίδρασης (n=208), αιματολογικών κακοηθειών (n=3), θετικό αποτέλεσμα αντισωμάτων για τον ιό SARS-CoV-2 (n=1), λήψης κορτικοστεροειδών (n=1), κακοήθειας συμπαγούς οργάνου (n=1), και λήψης χημειοθεραπείας (n=1). 301 συμμετέχοντες εντάχθηκαν στη μελέτη και τυχαιοποιήθηκαν: 153 άτομα έλαβαν εικονικό φάρμακο και 148 άτομα έλαβαν BCG (Εικόνα 1). Η ενδιάμεση ανάλυση στις 90 μέρες περιελάμβανε 153 συμμετέχοντες που έλαβαν εικονικό φάρμακο και 148 συμμετέχοντες που έλαβαν το εμβόλιο BCG. Τα βασικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων δεν διέφεραν ανάμεσα στις δυο ομάδες μελέτης (Πίνακας 2). 55 συμμετέχοντες που άνηκαν στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου και 56 συμμετέχοντες από την ομάδα του BCG χάθηκαν στην παρακολούθηση μετά τους πρώτους 3 μήνες. Ως εκ τούτου, η ανάλυση των αποτελεσμάτων στους 6 μήνες έγινε για 98 συμμετέχοντες στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου και 92 συμμετέχοντες στην ομάδα του BCG.

**Εικόνα 1. Επιλογή, τυχαιοποίηση και παρακολούθηση.**



**Πίνακας 2. Βασικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων στην ομάδα του εμβολιασμού με εικονικό φάρμακο και στην ομάδα του εμβολιασμού με BCG.**

	<b>Εικονικό φάρμακο (N=152)</b>	<b>BCG (N=148)</b>	<b>p</b>
Άρρεν φύλο - ν (%)	106 (69.7)	98 (66.2)	0.538
Μέση ηλικία (SD) - έτη	68.7 (10.6)	68.6 (10.4)	0.912
Δείκτης συννοσηροτήτων του Charlson – μέση (SD)	3.86 (1.53)	3.66 (1.52)	0.112
Συννοσηρότητες - ν (%)			
Στεφανιαία νόσος	24 (15.8)	17 (11.5)	0.315
Καρδιακή ανεπάρκεια	10 (6.6)	5 (3.4)	0.290
Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2	33 (21.7)	28 (18.9)	0.569
Αρτηριακή υπέρταση	49 (32.2)	38 (25.7)	0.252
Περιφερική αγγειακή νόσος	19 (12.5)	12 (8.1)	0.256
Χρόνια νεφρική νόσος	4 (2.6)	1 (0.7)	0.371
Αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο	9 (5.9)	3 (2.0)	0.138
Χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια	35 (23.0)	38 (25.7)	0.687
Υποθυρεοειδισμός	5 (3.3)	6 (4.1)	0.768
Ιστορικό χειρουργικής επέμβασης	36 (23.7)	39 (26.5)	0.597
Πρόσφατη νοσηλεία	20 (13.2)	20 (13.5)	1.00



## II. ΠΡΩΤΟΓΕΝΕΣ ΚΑΙ ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΗ ΚΑΤΑΛΗΚΤΙΚΑ ΣΗΜΕΙΑ

Το πρωτογενές καταληκτικό σημείο της κλινικής δοκιμής ήταν η επίπτωση είτε επιβεβαιωμένης, είτε πιθανής είτε ενδεχόμενης COVID-19 στους πρώτους 3 μήνες μετά τον εμβολιασμό των συμμετέχων. Εντούτοις, κατά την περίοδο των πρώτων τριών μηνών παρακολούθησης, η επίπτωση της COVID-19 στην Ελλάδα ήταν χαμηλή και ως εκ τούτου ο συνολικός αριθμός συμμετεχόντων που διαγνώστηκαν με COVID-19 ήταν χαμηλός και στις δυο ομάδες της μελέτης (10 ασθενείς στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου έναντι 2 ασθενών στην ομάδα του εμβολίου BCG,  $p=0.086$ ).

Σημαντικό πλεονέκτημα στο εμβολιασμό με BCG παρατηρήθηκε στα δευτερογενή καταληκτικά σημεία της μελέτης: 6 μήνες μετά τον εμβολιασμό, ο συνολικός αριθμός των νέων COVID-19 (επιβεβαιωμένων/ πιθανών/ ενδεχομένων) ήταν σημαντικά χαμηλότερος στην ομάδα του BCG εμβολίου σε σύγκριση με την ομάδα του εικονικού φαρμάκου (αναλογικός κίνδυνος 0,32 στην πολυπαραγοντική ανάλυση, 95 % διάστημα εμπιστοσύνης 0,13 έως 0,79,  $p=0,014$ ) (Πίνακας 3).

Επιβεβαιωμένη διάγνωση σοβαρής COVID-19 με ανάγκη νοσηλείας αναφέρθηκε σε 5 συμμετέχοντες στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου και μόνο σε έναν στην ομάδα του εμβολίου με BCG.

Όπως προβλέπονταν από το πρωτόκολλο της κλινικής δοκιμής, σε όλους του συμμετέχοντες, 3 μήνες μετά τον εμβολιασμό τους υποβάλλονταν σε ταχεία δοκιμασία ανίχνευσης αντισωμάτων IgM/ IgG για τον ιό SARS-CoV-2 με σκοπό την ανεύρεση ασυμπτωματικών λοιμώξεων. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον εμφανίζει η παρουσία αντισωμάτων για τον ιό SARS-CoV-2 στο 1,3% (2/153) των συμμετεχόντων στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου, σε σύγκριση με το 4,7% (7/148) των συμμετεχόντων στην ομάδα του BCG, εύρημα όμως που δεν είναι στατιστικά σημαντικό ( $p=0.099$ ).

**Πίνακας 3. Ο εμβολιασμός με BCG ως ανεξάρτητος προστατευτικός παράγοντας για την εμφάνιση συμπτωμάτων συμβατών με COVID-19 και/ ή επιβεβαιωμένη COVID-19.** Παρουσιάζονται μονομετάβλητα και πολυμετάβλητα μοντέλα. Παρουσιάζονται μόνο οι στατιστικά σημαντικές μεταβλητές

Παράμετροι, n (%)	Θετικές απάντησεις σε ερωτηματολόγιο σχετικά με τη COVID-19 και/ ή επιβεβαιωμένη COVID-19		Μονομετάβλητη Ανάλυση		Πολυμετάβλητη Ανάλυση	
	Ναι (N=274)	Όχι (N=27)	ΑΚ (95% ΔΕ)	p	ΑΚ (95% ΔΕ)	p
Εμβολιασμός με BCG	141 (51,5)	7 (25,9)	0,33 (0,14-0,81)	0,015	0,32 (0,13-0,79)	0,014
Στεφανιαία νόσος	35 (12,8)	7 (25,9)	2,39 (0,94-6,06)	0,067		
Σακχαρώδης Διαβήτης τύπου 2	52 (19,0)	10 (37,0)	2,51 (1,09-5,80)	0,031		
Πρόσφατη νοσηλεία	33 (12,0)	8 (29,6)	3,08 (1,25-7,58)	0,015	3,16 (1,26-7,95)	0,014

Συντομογραφίες: ΔΕ διάστημα εμπιστοσύνης, ΑΚ αναλογικός κίνδυνος

#### 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η παρούσα πολυκεντρική, τυχαιοποιημένη, κλινική δοκιμή φάσης III αποτελεί την πρώτη μελέτη εμβολιασμού με BCG έναντι της COVID-19, με την οποία καταδείξαμε ότι ο εμβολιασμός με BCG είχε σαν αποτέλεσμα την σημαντική μείωση της επίπτωσης ενδεχόμενης/ πιθανής/ επιβεβαιωμένης COVID-19 σε άτομα ίσης ή μεγαλύτερης ηλικίας από 50 έτη, 6 μήνες μετά τον εμβολιασμό, σε σύγκριση με το εικονικό φάρμακο. Παρόλο που ο αριθμός των σοβαρών λοιμώξεων ήταν μικρός, πέντε συμμετέχοντες που εμβολιάστηκαν με το εικονικό φάρμακο παρουσίασαν σοβαρή COVID-19 και χρειάστηκαν νοσηλεία σε σύγκριση με έναν συμμετέχοντα από την ομάδα του εικονικού φαρμάκου.

Για την σχεδίαση της κλινικής δοκιμής ACTIVATE 2 βασιστήκαμε στα χαρακτηριστικά του εμβολίου BCG να: α) μειώνει την επίπτωση των λοιμώξεων αναπνευστικού σε παιδιά και ενήλικες (2,6,25–27), β) έχει αντιική δράση σε πειραματικά μοντέλα (7), γ) μειώνει την ιαιμία σε πειραματικά ανθρώπινα μοντέλα

ιικών λοιμώξεων (15), δ) είναι ασφαλής η χορήγηση του στα πλαίσια της COVID-19 πανδημίας (23). Υποθέσαμε ότι ο εμβολιασμός θα μπορούσε να επάγει μερική προστασία έναντι της COVID-19 ή/ και της σοβαρής νόσησης από τον ιό SARS-CoV-2. Η υπόθεση μας επιβεβαιώθηκε από τα κλινικά δεδομένα, αφού καταδείξαμε μείωση κατά 68% της διάγνωσης COVID-19 στην ομάδα του BCG. Αν και τα αποτελέσματά μας συμβαδίζουν με τα ευρήματα μελετών που δείχνουν μια θετική συσχέτιση των χωρών που έχουν εφαρμόσει τον εμβολιασμό με BCG στην παιδική ηλικία και τον χαμηλό επιπολασμό της COVID-19 στις χώρες αυτές (21,22), τα ευρήματα αυτά δεν επιβεβαιώνονται από όλες τις μελέτες (28,29). Στις οικολογικές μελέτες συχνά υπάρχουν συγχυτικοί παράγοντες, και ως εκ τούτου τα συμπεράσματά τους πρέπει να αναλύονται με προσοχή. Εντούτοις, δεδομένα από πρόσφατες μελέτες παρατήρησης υποστηρίζουν την προστατευτική δράση του BCG όπως περιγράφηκε στην ACTIVATE 2: μια μελέτη έδειξε μειωμένη επίπτωση COVID-19 σε άτομα με πρόσφατο εμβολιασμό με BCG (30) και άλλη μελέτη κατέδειξε μείωση της βαρύτητας της COVID-19 σε παιδιά που είχαν εμβολιαστεί με BCG (31).

Πρόσφατα περιγράφηκε ότι τα μη- ειδικά, ευεργετικά αποτελέσματα του εμβολιασμού με BCG οφείλονται σε επιγενετικό και μεταβολικό επαναπρογραμματισμό της μη ειδικής ανοσίας όπως εκφράζεται με μυελικά κύτταρα και NK κύτταρα, με αποτέλεσμα την αυξημένη αντιμικροβιακή τους δράση, μια διαδικασία που ονομάζεται εκπαιδευμένη ανοσία (13). Επομένως, μετά την έκθεση σε συγκεκριμένους μικροοργανισμούς, το μη ειδικό ανοσιακό σύστημα προετοιμάζεται και είναι ικανό να αντιδρά πιο γρήγορα και πιο αποτελεσματικά σε νέα (διαφορετικά) ερεθίσματα. Σε πειραματικές μελέτες, ο εμβολιασμός με BCG φαίνεται ότι δρα προστατευτικά όχι μόνο έναντι βακτηριακών και μυκητιασικών λοιμώξεων, αλλά και έναντι ιογενών λοιμώξεων, όπως είναι η γρίπη (7). Επιπλέον, σε εθελοντές που έλαβαν πριν από τον εμβολιασμό τους έναντι του ιού του κίτρινου πυρετού, μια δόση BCG εμφάνιζαν λιγότερη ιαιμία και είχαν καλύτερη αντιική απάντηση έναντι αυτών που έλαβαν εικονικό φάρμακο (15). Η μειωμένη ιαιμία σχετίζεται με την εκπαιδευμένη ανοσία όπως εκφράζεται στα μυελικά κύτταρα και όχι με την ειδική ανοσία που βασίζεται σε κύτταρα μνήμης, τα λεμφοκύτταρα (15). Τέλος, ο πιθανός ρόλος της εκπαιδευμένης ανοσίας για την προστασία έναντι της COVID-19 υποστηρίζεται και από τα αποτελέσματα της κλινικής δοκιμής ACTIVATE, με τα

οποία διαπιστώθηκε αυξημένη μη ειδική ανοσιακή απόκριση σε άτομα με πρόσφατο εμβολιασμό με BCG (25).

Μελετώντας τα αποτελέσματα του ορολογικού ελέγχου έναντι του ιού SARS-CoV-2, με σκοπό την ανεύρεση ασυμπτωματικών νόσων, είχαμε ενδιαφέροντα ευρήματα: μόνο το 1,3% όσων έλαβαν το εικονικό φάρμακο είχαν ορομετατροπή σε αντίθεση με το 4,7% όσων εμβολιάστηκαν με BCG οι οποίοι είχαν θετικά αντισώματα για τον ιό SARS-CoV-2. Αν και η διαφορά αυτή δεν είναι στατιστικά σημαντική εξαιτίας του μικρού αριθμού του δείγματος και μπορεί να είναι τυχαίο εύρημα, εντούτοις θα μπορούσε να συμβαδίζει με ευρήματα από προηγούμενες μελέτες που έχουν δείξει ότι ο εμβολιασμός με BCG βελτιώνει την ορολογική απάντηση του οργανισμού σε άλλα εμβόλια (32,33), και ίσως να συμβαίνει το ίδιο σε ασυμπτωματική COVID-19. Έχει φανεί ότι ήπιες ή ασυμπτωματικές λοιμώξεις από SARS-CoV-2 επάγουν μικρή παραγωγή αντισωμάτων (34–37). Ο εμβολιασμός με BCG πριν από τη νόσηση ίσως βελτιώνει και αυξάνει την παραγωγή αντισωμάτων και κατ' επέκταση επάγει αυξημένη προστασία έναντι της COVID-19 σε ασυμπτωματικούς φορείς. Μελλοντικές μελέτες θα μπορούσαν να γίνουν με σκοπό τη διεύρυνση αυτής της υπόθεσης.

Ήδη, σε πολλές χώρες διενεργούνται μελέτες που σχετίζονται με τον εμβολιασμό με BCG σε παιδιά και ενήλικες. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον έχει η διαπίστωση ότι σε αναπτυσσόμενες χώρες ή σε χώρες όπου προϋπήρχαν εμβολιαστικά προγράμματα BCG, ο επανεμβολιασμός με BCG έχει καλύτερα αποτελέσματα σε σχέση με αναπτυγμένες χώρες όπου ο εμβολιασμός των συμμετεχόντων γίνεται για πρώτη φορά. Πιο συγκεκριμένα, κλινικές δοκιμές σε παιδιά στην Αφρική έδειξαν ότι ο εμβολιασμός με BCG σχετίστηκε με σημαντική μείωση της θνητότητας (2,26) και προστασίας έναντι λοιμώξεων (27), αλλά τα ευρήματα αυτά δεν επιβεβαιώθηκαν από μεγάλη κλινική μελέτη στη Δανία (3). Εντούτοις, σε μελέτη στη Δανία, ο εμβολιασμός παιδιών με BCG, όταν και η μητέρα τους είχε εμβολιαστεί με BCG, τα προστάτευε σε ποσοστό 30% από την εμφάνιση λοιμώξεων σε σύγκριση με παιδιά που εμβολιάστηκαν με BCG αλλά η μητέρα τους δεν ήταν εμβολιασμένη με BCG (38)\*. Επιπλέον, επανεμβολιασμός με BCG εφήβων στη Νότια Αφρική είχε σαν αποτέλεσμα τη μείωση εμφάνισης λοιμώξεων κατά 73% (6), ενώ ο επανεμβολιασμός με BCG πληθυσμού υπερηλίκων στην Ελλάδα μείωσε κατά 80% την εμφάνιση λοιμώξεων του αναπνευστικού (25). Αν και δεν έχουμε πληροφορίες για το ιστορικό εμβολιασμού με BCG των συμμετεχόντων στην μελέτη AVTIVATE 2, πιθανά η

συντριπτική πλειοψηφία να είχε ήδη εμβολιαστεί με BCG στην παιδική ηλικία, αφού στην Ελλάδα εφαρμοζόταν ο εμβολιασμός με BCG σε όλα τα παιδιά, τη χρονική περίοδο που οι συμμετέχοντες ήταν στην παιδική ηλικία. Επομένως, αν και τα αποτελέσματα της ενδιάμεσης ανάλυσης της μελέτης BCG-PRIME από την Ολλανδία έρχονται σε αντίθεση με τα αποτελέσματα της ACTIVATE 2, αφού δεν δείχνουν προστατευτική φάση του εμβολίου BCG έναντι της COVID-19 (39), η προστατευτική δράση του BCG πιθανά να εξαρτάται από το αν είναι πρώτος εμβολιασμός ή επανεμβολιασμός. Η παράμετρος αυτή ως προς την προστατευτική δράση του BCG θα μπορούσε να διερευνηθεί σε μελλοντικές μελέτες.

Η παρούσα μελέτη έχει κάποιους περιορισμούς, με πιο σημαντικό το μικρό δείγμα συμμετεχόντων της μελέτης. Αν και η ισχυρή επίδραση του εμβολιασμού με BCG μας οδήγησε σε σημαντικά συμπεράσματα σχετικά με την προστατευτική του δράση έναντι της COVID-19, τα δεδομένα από άλλες μεγάλες μελέτες που είναι υπό εξέλιξη θα βοηθήσουν ώστε να επιβεβαιώσουμε τα ευρήματα της μελέτης ACTIVATE-2. Ένας ακόμα περιορισμός είναι η έλλειψη μικροβιολογικού ελέγχου των ασθενών με κλινική διάγνωση ενδεχόμενης ή πιθανής COVID-19. Αν και δεν μπορούμε να αποκλείσουμε νόσηση από άλλο παθογόνο, το γεγονός ότι οι συμμετέχοντες νόσησαν κατά τη διάρκεια της COVID-19 πανδημίας και ενώ υπήρχαν αυστηρά μέτρα κοινωνικής απομόνωσης, καθιστά τη διάγνωση από COVID-19 την πιο πιθανή. Επιπλέον, εξαιτίας του μικρού δείγματος συμμετεχόντων στη μελέτη, δεν μπορούμε να καταλήξουμε σε ασφαλή συμπεράσματα σχετικά με τη δράση του BCG σε περιπτώσεις σοβαρής COVID-19. Εντούτοις, η διαφορά των περιπτώσεων νοσηλείας λόγω σοβαρής COVID-19 ανάμεσα στην ομάδα του BCG και στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου, πιθανά να δείχνει την προστατευτική δράση του εμβολιασμού. Ένας ακόμα περιορισμός είναι η έλλειψη πληροφοριών σχετικά με τους υποτύπους του SARS-CoV-2 από τους οποίους νόσησαν οι συμμετέχοντες και μελλοντικές μελέτες μπορούν να γίνουν και προς αυτή την κατεύθυνση. Τέλος, πολλά σημεία του παθοφυσιολογικού μηχανισμού με τον οποίο ο εμβολιασμός με BCG δρα στα ειδικά ανοσολογικά μονοπάτια του ξενιστή έναντι του SARS-CoV-2 (ειδικά αντισώματα, απόκριση των T κυττάρων), δεν έχουν αποσαφηνιστεί και χρειάζονται επιπλέον μελέτες προς αυτή την κατεύθυνση.

Όταν πλέον είναι διαθέσιμα τα καινούργια εμβόλια κατά του SARS-CoV-2, θα αναρωτιέται κανείς γιατί χρειαζόμαστε κλινικές δοκιμές που να μελετούν τη δράση του BCG εναντίον της COVID-19. Φαίνεται όμως ότι υπάρχουν αρκετοί λόγοι που οι

μελέτες αυτές είναι σημαντικές. Πρώτον, η διαθεσιμότητα των νέων εμβολίων είναι περιορισμένη, ιδιαίτερα σε αναπτυσσόμενες χώρες. Από την άλλη πλευρά όμως, οι περισσότερες αναπτυσσόμενες χώρες έχουν εμβολιαστικά προγράμματα που προβλέπουν τον εμβολιασμό με BCG σε παιδική ηλικία. Επομένως, ο επανεμβολιασμός του πληθυσμού τους με το εμβόλιο BCG θα είχε σημαντικό όφελος στην αντιμετώπιση της COVID-19 πανδημίας, έως ότου τα νέα εμβόλια να γίνονταν διαθέσιμα για το σύνολο του πληθυσμού τους. Δεύτερον, η αποτελεσματικότητα των νέων εμβολίων σε περιπτώσεις ανάδειξης νέων στελεχών του SARS-CoV-2 θα μπορούσε να αμφισβητείται καθώς τα νέα εμβόλια φαίνεται να μην παρέχουν σημαντική προστασία έναντι νέων στελεχών (40). Στην περίπτωση αυτή, η χορήγηση εμβολίου που βασίζεται στην εκπαιδευμένη ανοσία και ενισχύει την απάντηση του ξενιστή έναντι παθογόνων, ανεξάρτητα από το είδος του αντιγόνου, θα μπορούσε να είναι ιδιαίτερα χρήσιμο σε περιπτώσεις που αναδύονται στελέχη του ιού που δεν καλύπτονται επαρκώς από τα νέα εμβόλια. Τρίτον, η προσέγγιση ότι ετερογενή εμβόλια θα μπορούσαν να εφαρμοστούν με επιτυχία σε μια πανδημία είναι εξαιρετικά χρήσιμη σε περίπτωση νέας, μελλοντικής πανδημίας. Μια τέτοια στρατηγική χορήγησης τέτοιων εμβολίων θα μπορούσε να λειτουργήσει ως γέφυρα για μερική προστασία του πληθυσμού, πολύ πριν τα εμβόλια να είναι διαθέσιμα (14).

Συμπερασματικά, ο επανεμβολιασμός πληθυσμού ίσου ή άνω των 50 ετών με BCG είναι ασφαλής και παρέχει σημαντική προστασία έναντι της COVID-19. Ο εμβολιασμός με BCG θα μπορούσε να είναι ένα σημαντικό μέτρο πρόληψης νόσησης και να λειτουργήσει ως γέφυρα έως ότου επιτευχθεί η ανοσία της αγέλης.

## **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

1. Shann F. The non-specific effects of vaccines. *Arch Dis Child*. 2010 Sep;95(9):662–7.
2. Aaby P, Roth A, Ravn H, Napirna BM, Rodrigues A, Lisse IM, et al. Randomized trial of BCG vaccination at birth to low-birth-weight children: beneficial nonspecific effects in the neonatal period? *J Infect Dis*. 2011 Jul 15;204(2):245–52.
3. Stensballe LG, Nante E, Jensen IP, Kofoed P-E, Poulsen A, Jensen H, et al. Acute lower respiratory tract infections and respiratory syncytial virus in infants in Guinea-Bissau: a beneficial effect of BCG vaccination for girls community based case-control study. *Vaccine*. 2005 Jan 26;23(10):1251–7.
4. Wardhana null, Datau EA, Sultana A, Mandang VVV, Jim E. The efficacy of Bacillus Calmette-Guerin vaccinations for the prevention of acute upper respiratory tract infection in the elderly. *Acta Medica Indones*. 2011 Jul;43(3):185–90.
5. Ohrui T, Nakayama K, Fukushima T, Chiba H, Sasaki H. [Prevention of elderly pneumonia by pneumococcal, influenza and BCG vaccinations]. *Nihon Ronen Igakkai Zasshi Jpn J Geriatr*. 2005 Jan;42(1):34–6.
6. Nemes E, Geldenhuys H, Rozot V, Rutkowski KT, Ratangee F, Bilek N, et al. Prevention of *M. tuberculosis* Infection with H4:IC31 Vaccine or BCG Revaccination. *N Engl J Med*. 2018 Jul 12;379(2):138–49.
7. Spencer JC, Ganguly R, Waldman RH. Nonspecific protection of mice against influenza virus infection by local or systemic immunization with Bacille Calmette-Guérin. *J Infect Dis*. 1977 Aug;136(2):171–5.
8. Starr SE, Visintine AM, Tomeh MO, Nahmias AJ. Effects of immunostimulants on resistance of newborn mice to herpes simplex type 2 infection. *Proc Soc Exp Biol Med Soc Exp Biol Med N Y N*. 1976 May;152(1):57–60.

9. Ikeda S, Negishi T, Nishimura C. Enhancement of non-specific resistance to viral infection by muramyl dipeptide and its analogs. *Antiviral Res.* 1985 Aug;5(4):207–15.
10. de Bree LCJ, Marijnissen RJ, Kel JM, Rosendahl Huber SK, Aaby P, Benn CS, et al. *Bacillus Calmette-Guérin*-Induced Trained Immunity Is Not Protective for Experimental Influenza A/Anhui/1/2013 (H7N9) Infection in Mice. *Front Immunol.* 2018;9:869.
11. Moorlag SJCFM, Arts RJW, van Crevel R, Netea MG. Non-specific effects of BCG vaccine on viral infections. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis.* 2019 Dec;25(12):1473–8.
12. Kleinnijenhuis J, Quintin J, Preijers F, Joosten LAB, Ifrim DC, Saeed S, et al. *Bacille Calmette-Guérin* induces NOD2-dependent nonspecific protection from reinfection via epigenetic reprogramming of monocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012 Oct 23;109(43):17537–42.
13. Netea MG, Joosten LAB, Latz E, Mills KHG, Natoli G, Stunnenberg HG, et al. Trained immunity: A program of innate immune memory in health and disease. *Science.* 2016 Apr 22;352(6284):aaf1098.
14. Netea MG, Domínguez-Andrés J, Barreiro LB, Chavakis T, Divangahi M, Fuchs E, et al. Defining trained immunity and its role in health and disease. *Nat Rev Immunol.* 2020 Jun;20(6):375–88.
15. Arts RJW, Moorlag SJCFM, Novakovic B, Li Y, Wang S-Y, Oosting M, et al. BCG Vaccination Protects against Experimental Viral Infection in Humans through the Induction of Cytokines Associated with Trained Immunity. *Cell Host Microbe.* 2018 Jan 10;23(1):89-100.e5.
16. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China - PubMed [Internet]. [cited 2021 Jun 28]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31986264/>
17. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard [Internet]. [cited 2021 Jun 30]. Available from: <https://covid19.who.int>



18. Forni G, Mantovani A, COVID-19 Commission of Accademia Nazionale dei Lincei, Rome. COVID-19 vaccines: where we stand and challenges ahead. *Cell Death Differ.* 2021 Feb;28(2):626–39.
19. Amit S, Regev-Yochay G, Afek A, Kreiss Y, Leshem E. Early rate reductions of SARS-CoV-2 infection and COVID-19 in BNT162b2 vaccine recipients. *Lancet Lond Engl.* 2021 Mar 6;397(10277):875–7.
20. Benn CS, Netea MG, Selin LK, Aaby P. A small jab - a big effect: nonspecific immunomodulation by vaccines. *Trends Immunol.* 2013 Sep;34(9):431–9.
21. Berg MK, Yu Q, Salvador CE, Melani I, Kitayama S. Mandated Bacillus Calmette-Guérin (BCG) vaccination predicts flattened curves for the spread of COVID-19. *Sci Adv.* 2020 Aug;6(32):eabc1463.
22. Escobar LE, Molina-Cruz A, Barillas-Mury C. BCG vaccine protection from severe coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2020 Jul 28;117(30):17720–6.
23. Moorlag SJCFM, van Deuren RC, van Werkhoven CH, Jaeger M, Debisarun P, Taks E, et al. Safety and COVID-19 Symptoms in Individuals Recently Vaccinated with BCG: a Retrospective Cohort Study. *Cell Rep Med.* 2020 Aug 25;1(5):100073.
24. Rivas MN, Ebinger JE, Wu M, Sun N, Braun J, Sobhani K, et al. BCG vaccination history associates with decreased SARS-CoV-2 seroprevalence across a diverse cohort of health care workers. *J Clin Invest.* 2021 Jan 19;131(2):145157.
25. Giamarellos-Bourboulis EJ, Tsilika M, Moorlag S, Antonakos N, Kotsaki A, Domínguez-Andrés J, et al. Activate: Randomized Clinical Trial of BCG Vaccination against Infection in the Elderly. *Cell.* 2020 Oct 15;183(2):315-323.e9.
26. Biering-Sørensen S, Aaby P, Napirna BM, Roth A, Ravn H, Rodrigues A, et al. Small randomized trial among low-birth-weight children receiving bacillus

- Calmette-Guérin vaccination at first health center contact. *Pediatr Infect Dis J*. 2012 Mar;31(3):306–8.
27. Prentice S, Nassanga B, Webb EL, Akello F, Kiwudhu F, Akurut H, et al. BCG-induced non-specific effects on heterologous infectious disease in Ugandan neonates: an investigator-blind randomised controlled trial. *Lancet Infect Dis*. 2021 Jul;21(7):993–1003.
  28. Hamiel U, Kozer E, Youngster I. SARS-CoV-2 Rates in BCG-Vaccinated and Unvaccinated Young Adults. *JAMA*. 2020 Jun 9;323(22):2340–1.
  29. Wassenaar TM, Buzard GS, Newman DJ. BCG vaccination early in life does not improve COVID-19 outcome of elderly populations, based on nationally reported data. *Lett Appl Microbiol*. 2020 Nov;71(5):498–505.
  30. Effectiveness of booster BCG vaccination in preventing Covid-19 infection | medRxiv [Internet]. [cited 2021 Jun 28]. Available from: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.08.10.20172288v1>
  31. Chen F, Chen GX, Zhou J, Xue Y, Wu MX. Childhood Bacille Calmette-Guerin Vaccination and Its Association With Less Severe COVID-19 Pneumonia. *Am J Prev Med* [Internet]. 2021 Apr 12 [cited 2021 Jun 28]; Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8041236/>
  32. Leentjens J, Kox M, Stokman R, Gerretsen J, Diavatopoulos DA, van Crevel R, et al. BCG Vaccination Enhances the Immunogenicity of Subsequent Influenza Vaccination in Healthy Volunteers: A Randomized, Placebo-Controlled Pilot Study. *J Infect Dis*. 2015 Dec 15;212(12):1930–8.
  33. Ritz N, Mui M, Balloch A, Curtis N. Non-specific effect of Bacille Calmette-Guérin vaccine on the immune response to routine immunisations. *Vaccine*. 2013 Jun 26;31(30):3098–103.
  34. Bölke E, Matuschek C, Fischer JC. Loss of Anti-SARS-CoV-2 Antibodies in Mild Covid-19. *N Engl J Med*. 2020 Oct 22;383(17):1694–5.

35. Kutsuna S, Asai Y, Matsunaga A. Loss of Anti-SARS-CoV-2 Antibodies in Mild Covid-19. *N Engl J Med*. 2020 Oct 22;383(17):1695–6.
36. Terpos E, Mentis A, Dimopoulos MA. Loss of Anti-SARS-CoV-2 Antibodies in Mild Covid-19. *N Engl J Med*. 2020 Oct 22;383(17):1695.
37. Yang OO, Ibarondo FJ. Loss of Anti-SARS-CoV-2 Antibodies in Mild Covid-19. Reply. *N Engl J Med*. 2020 Oct 22;383(17):1697–8.
38. Berendsen MLT, Øland CB, Bles P, Jensen AKG, Kofoed P-E, Whittle H, et al. Maternal Priming: Bacillus Calmette-Guérin (BCG) Vaccine Scarring in Mothers Enhances the Survival of Their Child With a BCG Vaccine Scar. *J Pediatr Infect Dis Soc*. 2020 Apr 30;9(2):166–72.
39. Jan 18: Tuberculosis vaccine does not protect vulnerable elderly against COVID-19 - UMC Utrecht [Internet]. [cited 2021 Jun 28]. Available from: <https://www.umcutrecht.nl/en/about-us/news/details/jan-18-tuberculosis-vaccine-does-not-protect-vulnerable-elderly-against-covid-19>
40. Kustin T, Harel N, Finkel U, Perchik S, Harari S, Tahor M, et al. Evidence for increased breakthrough rates of SARS-CoV-2 variants of concern in BNT162b2-mRNA-vaccinated individuals. *Nat Med*. 2021 Jun 14;