

NEDERLANDS TIJDSCHRIFT VOOR

# MEDISCHE MICROBIOLOGIE



www.nvmm.nl

## Artikel

### Niet-specifieke effecten van het BCG-vaccin

*Simone Moorlag, Mihai Netea*



ID NOW™

REALISEER UITGEBREIDE  
TESTMOGELIJKHEDEN

**NOW**

ID NOW™ is een platform voor snelle moleculaire respiratoire testen waarmee artsen nauwkeurige diagnoses kunnen stellen voor COVID-19, influenza, RSV en Strep A in real-time in elke acute zorgomgeving, waar en wanneer dit het meeste nodig is.



GA NAAR  
IDNOW.ABBOTT

Scan NU de code.  
En zie hoe ID NOW uw testmogelijkheden kan uitbreiden en de workflow in het ziekenhuis kan verbeteren.



# Niet-specifieke effecten van het BCG-vaccin

Simone Moorlag, Mihai Netea

## Samenvatting

Het *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG)-vaccin is het meest gebruikte vaccin ter wereld. Bij meer dan 4 miljard mensen is het BCG-vaccin toegediend en jaarlijks ontvangen meer dan 100 miljoen pasgeborenen het vaccin. Behalve dat het gedeeltelijke bescherming biedt tegen tuberculose blijkt het BCG-vaccin ook werkzaam als immunotherapie bij patiënten met blaaskanker. Daarnaast heeft onderzoek aangetoond dat het BCG-vaccin bescherming biedt tegen infecties die niet door mycobacteriën worden veroorzaakt. Deze niet-specifieke effecten ontstaan doordat het vaccin langdurige veranderingen in het aangeboren immuunsysteem teweegbrengt, een effect dat 'getrainde immuniteit' wordt genoemd. Dit artikel geeft een kort overzicht van de niet-specifieke effecten van het BCG-vaccin op infecties en bespreekt de mogelijke rol van BCG in de Covid-19-pandemie.

## Abstract

The *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG)-vaccine is the most widely used vaccine in the world. More than 4 billion individuals have been vaccinated with BCG and the vaccine is administered to more than 100 million children around the world every year. Besides offering limited protection against disseminated forms of tuberculosis, BCG is used as a non-specific immunotherapy in bladder cancer. More recently, it was shown that BCG also offers protection against various non-mycobacterial infections. These non-specific effects are mediated via the induction of long-term functional reprogramming of innate immune cells, a process termed 'trained immunity'. This article gives a short overview of the evidence for non-specific protection against infections induced by BCG and discusses its potential role in the Covid-19 pandemic.

## Introductie

Honderd jaar geleden hebben de Franse onderzoekers

Albert Calmette en Jean-Marie Camille Guérin het *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG)-vaccin tegen tuberculose ontwikkeld. Het vaccin bestaat uit een levend verzwakte stam van de *Mycobacterium bovis*-bacterie en wordt in de meeste landen waar tuberculose endemisch voorkomt, intracutaan toegediend bij pasgeborenen. Daarmee is het BCG-vaccin, of kortweg BCG, het meest toegediende vaccin ter wereld. Volgens schattingen ontvangt ongeveer 75 procent van de 130 miljoen pasgeborenen wereldwijd het tuberculosevaccin [1]. De effectiviteit van BCG-vaccinatie tegen tuberculose is echter beperkt, is afhankelijk van veel verschillende factoren en varieert tussen de 0 en 80 procent [2].

Na een infectie of vaccinatie bouwen de T- en B-lymfocyten van het adaptieve immuunsysteem een immunologisch geheugen op. Na het ontstaan van deze cellen verloopt de immunrespons efficiënter en krachtiger bij een secundaire infectie met hetzelfde micro-organisme. Recent heeft onderzoek echter aangetoond dat het BCG-vaccin naast bescherming tegen tuberculose, ook bescherming kan bieden tegen niet-mycobacteriële infectieziekten door het aangeboren immuunsysteem te 'trainen'. Lange tijd werd gedacht dat de cellen van het aangeboren immuunsysteem (onder meer monocyten, 'natural killer' (NK)-cellen, neutrofielen en macrofagen) geen immunologisch geheugen kunnen opbouwen en, in tegenstelling tot lymfocyten, op dezelfde manier reageren bij een tweede infectie. Uit studies met gezonde vrijwilligers die met het BCG-vaccin werden gevaccineerd bleek dat dit niet juist is. De afweercellen van het aangeboren immuunsysteem zijn na BCG-vaccinatie niet alleen in staat om meer afweerstoffen

Radboudumc, afdeling Medische Microbiologie,  
S.J.C.F.M. Moorlag, aios Medische Microbiologie,  
promovendus.

Radboudumc, afdeling Experimentele Interne  
Geneeskunde, M.G. Netea, internist-infectioloog.  
Correspondentieadres: S.J.C.F.M. Moorlag  
(simone.moorlag@radboudumc.nl).

te produceren tegen antigenen van de tuberkelbacil; ze vertonen ook een sterkere immunerespons tegen andere niet-tuberculeuze bacteriën, virussen en schimmels. Naast de verhoogde productie van pro-inflammatoire cytokines en zuurstofradicalen, neemt het aantal receptoren waarmee monocyt en neutrofielen pathogenen herkennen sterk toe na BCG-vaccinatie [3,4]. Dit niet-specifieke immunologische geheugen van het aangeboren immuunsysteem wordt 'getrainde immuniteit' (Engels: *trained immunity*) genoemd (figuur 1) [5].

### Epigenetische en metabole modificaties

De laatste jaren is steeds meer duidelijk geworden over de mechanismen die ten grondslag liggen aan het proces van getrainde immuniteit. Zo is gebleken dat na BCG-vaccinatie de RNA-transcriptie en de productie van eiwitten betrokken bij de afweer bij een tweede infectie sneller en efficiënter verlopen. Dit wordt mogelijk gemaakt door veranderingen in de manier waarop het chromatine ligt opgevouwen in de celkern, ook wel epigenetische modificaties genoemd. Na BCG-vaccinatie kan het chromatine makkelijker worden afgelezen waardoor bij een tweede infectie de

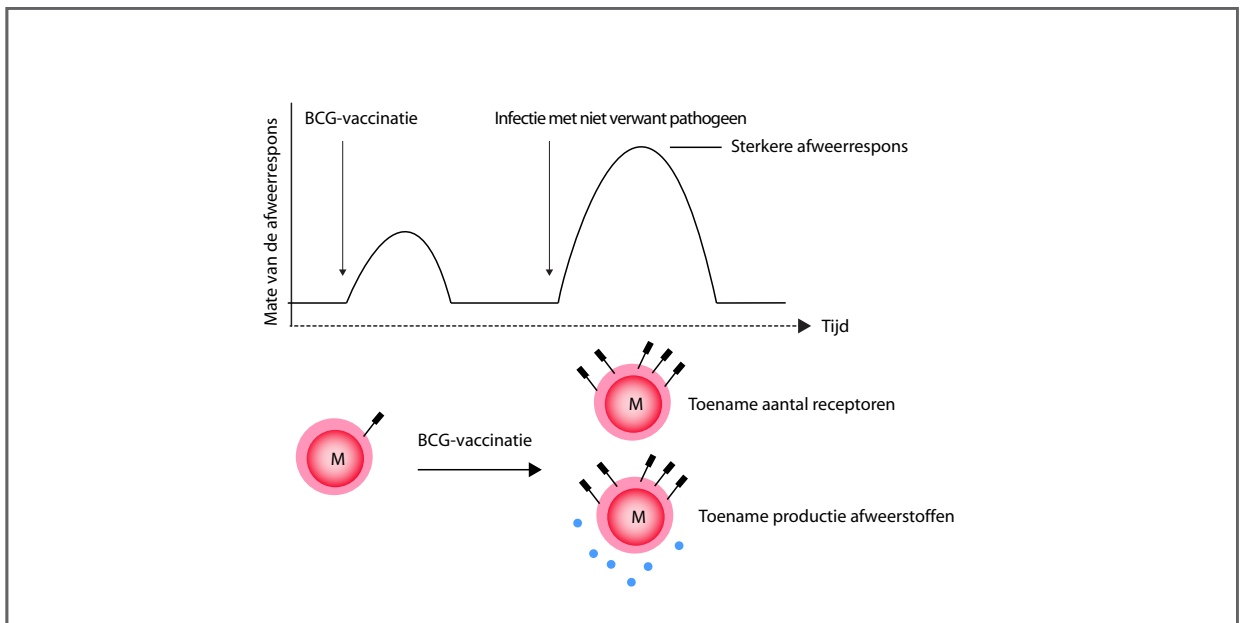
cellen van het aangeboren immuunsysteem sneller en sterker kunnen reageren, ongeacht het type pathogeen. Naast epigenetische modificaties spelen veranderingen in het metabolisme van de cel een belangrijke rol [6]. Deze effecten zijn tot ten minste één jaar na vaccinatie meetbaar [7]. Aangezien immunecellen zoals monocyt en neutrofielen slechts een aantal dagen in de bloedsomloop circuleren, zou dit betekenen dat BCG veranderingen induceert op het niveau van de stamcellen in het beenmerg. Studies hebben inderdaad bevestigd dat BCG epigenetische en metabole veranderingen induceert in de stamcellen en in de myeloïde voorlopercellen in het beenmerg van de mens. Dit verklaart hoogstwaarschijnlijk de relatief lange duur van de door BCG geïnduceerde effecten op immunecellen in de circulatie [8,9].

### Klinische effecten

#### Effecten bij kinderen

De niet-specifieke effecten van het BCG-vaccin hebben belangrijke klinische gevolgen. Vlak na de introductie van het BCG-vaccin merkte de Zweedse

**Figuur 1.** Schematische weergave van de door BCG geïnduceerde getrainde immuniteit.



M = macrofaag

arts Carl Naeslund op dat de neonatale sterfte na de introductie van het BCG-vaccin met meer dan 50 procent daalde, een afname die niet kon worden verklaard door een daling van het aantal doden ten gevolge van tuberculose [10]. Dit opmerkelijke resultaat werd later bevestigd in verschillende epidemiologische studies in Europa, Noord- en Zuid-Amerika, en later in gerandomiseerde klinische onderzoeken in Afrika. Uit deze studies bleek dat kinderen die direct na de geboorte met BCG worden gevaccineerd een betere overleving hebben vanwege met name lagere sterfte door luchtweginfecties (anders dan tuberculose) en sepsis [11,12].

In een andere studie, uitgevoerd in Guinee-Bissau, werd gevonden dat BCG de incidentie verlaagt van luchtweginfecties als gevolg van het respiratoir syncytiaal virus (RSV) [13]. Daarnaast zijn er aanwijzingen dat BCG bescherming kan bieden tegen parasitaire infecties. Bij kinderen onder de vijf jaar woonachtig in landen ten zuiden van de Sahara is BCG-vaccinatie geassocieerd met een verminderde malariaprevalentie [14].

Dergelijke positieve effecten van BCG op de incidentie van infecties bij kinderen werden niet gevonden in een grootschalig onderzoek uitgevoerd onder 4262 kinderen in Denemarken. Ten opzichte van niet-BCG-gevaccineerde kinderen verlaagde BCG-vaccinatie bij de geboorte in deze studie niet het aantal gerapporteerde infecties en het aantal ziekenhuisopnames in het eerste levensjaar [15,16]. Verdere subgroepanalyses toonden aan dat BCG-vaccinatie van de moeder een rol speelt bij deze resultaten. Bij kinderen van BCG-gevaccineerde moeders werden minder infecties gerapporteerd in de eerste drie maanden na de geboorte (incidence rate ratio 0,62; 95% BI 0,39-0,98) en werden de kinderen minder vaak vanwege infecties in het ziekenhuis opgenomen (hazardratio 0,65; 95% BI 0,45-0,94). Een andere grote gerandomiseerde studie die momenteel loopt in Australië geeft mogelijk meer inzicht in het effect van BCG bij kinderen in landen met hoge inkomens (MIS-BAIR, ClinicalTrials.gov NCT01906853). In deze studie zijn in totaal 1272 pasgeborenen bij de geboorte met BCG of een placebo gevaccineerd en wordt het effect van BCG op de incidentie van infecties, allergie en eczeem onderzocht.

### Effecten bij volwassenen

Over de niet-specifieke effecten van BCG bij

volwassenen is minder bekend. Vergelijkbare resultaten omtrent het effect van BCG op luchtweginfecties zijn echter ook gerapporteerd bij volwassenen. In een klinisch onderzoek in Indonesië werden personen tussen de 60 en 75 jaar oud voor drie opeenvolgende maanden gevaccineerd met BCG, de controlegroep ontving een placebo. Het aantal bovensteluchtweginfecties was significant lager in de BCG-groep [17]. Onderzoek bij 155 ouderen die verbleven in een verpleeghuis in Japan suggereert dat BCG-vaccinatie het risico op een pneumonie verlaagt [18]. In deze studies werd geen onderscheid gemaakt tussen infecties van virale of bacteriële oorsprong. Daarnaast is er recent een gerandomiseerd klinisch onderzoek uitgevoerd in Griekenland, waarin het effect van BCG-vaccinatie op de ontwikkeling van luchtweginfecties bij ouderen is onderzocht [19]. In dit onderzoek ontvingen 198 deelnemers met een leeftijd boven de 60 jaar op de dag van hun ontslag uit het ziekenhuis het BCG-vaccin of een placebo en werden ze vervolgens gedurende één jaar gevolgd. In de placebogroep ontwikkelde 42 procent een nieuwe infectie, in de BCG-groep was dit 25 procent. De sterkste bescherming in de BCG-groep was tegen luchtweginfecties van vermoedelijk virale origine (hazardratio 0,21,  $p = 0,013$ ). Deze effecten waren geassocieerd met een fenotype passend bij getrainde immuniteit, gekenmerkt door epigenetische modificaties en een toename in de productie van pro-inflammatoire cytokines. Naast het effect op luchtweginfecties zijn beschermende effecten van BCG-vaccinatie tegen infecties veroorzaakt door hsv en hpv beschreven [20-22]. Vanwege het beperkte aantal studies en de relatief kleine onderzoeksgroepen is verder onderzoek naar de klinische effecten van BCG-vaccinatie bij volwassenen nodig.

### Direct bewijs

In twee onderzoeken waarin gebruik werd gemaakt van gecontroleerde infectiemodellen werd aangetoond dat door BCG geïnduceerde getrainde immuniteit daadwerkelijk bijdraagt aan een betere bescherming tegen andere infecties. In de eerste studie werden gezonde volwassenen gevaccineerd met het BCG-vaccin of een placebo [23]. Een maand later ontvingen alle deelnemers het gelekoortsvaccin als een model voor een virale infectieziekte. De deelnemers die met BCG waren gevaccineerd, hadden na toediening van het gelekoortsvaccin, waarmee verzwakt virus in de

circulatie wordt geïntroduceerd, minder circulerend virus in het bloed in vergelijking met de placebogroep. De lagere viremie was geassocieerd met een toename in de productie van pro-inflammatoire cytokines na BCG-vaccinatie. Er werd geen verschil waargenomen tussen beide groepen in de hoeveelheid neutraliserende antistoffen tegen gele koorts. In een tweede gecontroleerde studie met twintig gezonde vrijwilligers, kregen de deelnemers het BCG-vaccin toegediend of een placebo. Alle deelnemers werden vijf weken later volgens een gecontroleerd infectiemodel geïnfecteerd door met *Plasmodium falciparum* besmette muggen. Bij de helft van de BCG-gevaccineerde vrijwilligers was de immuunrespons van monocyten en NK-cellen sterker en geassocieerd met een lagere parasitemie [24]. Deze in-vivo-onderzoeken suggereren dat hoe beter het aangeboren immuunsysteem is getraind door BCG, hoe sterker de reactie van het lichaam op een tweede infectieziekte.

### Verhoogde productie van antistoffen

Tot slot hebben studies aangetoond dat BCG ook van invloed kan zijn op de productie van antistoffen bij toekomstige vaccinaties. In een studie naar het effect van BCG op de immuunrespons tegen influenza werden gezonde personen gevaccineerd met BCG (n = 20) of placebo (n = 20) [25]. Twee weken later ontvingen alle deelnemers het trivalente influenzavaccin dat in dat jaar gebruikt werd. De BCG-groep ontwikkelde een grotere hoeveelheid antistoffen tegen de A(H1N1)pdm09-component van het influenzavaccin, maar niet tegen de beide andere componenten (A(H3N2) en B/2012). Een effect van BCG op de toename van geproduceerde antistoffen is ook beschreven voor andere vaccins, zoals het hepatitis B-vaccin en het pneumokokkenvaccin [26,27].

### BCG en Covid-19

Gezien de effecten van het BCG-vaccin op (virale) infecties, ontstond al vroeg na de uitbraak van de Covid-19-pandemie de vraag of BCG ook bescherming kan bieden tegen Covid-19. Er zijn verschillende ecologische studies gepubliceerd waarin een correlatie wordt gerapporteerd tussen vroege BCG-vaccinatie en Covid-19-gerelateerde morbiditeit en mortaliteit. In landen waar BCG-vaccinatie onderdeel is van het standaard vaccinatieprogramma, is de incidentie van Covid-19 en de mortaliteit lager dan in landen waarin BCG geen onderdeel uitmaakt van het

vaccinatieprogramma [28-30]. Deze studies kennen echter methodologische beperkingen en zijn gevoelig voor bias. Zo toonde een andere studie aan dat er geen significant verschil was tussen de landen wanneer er gecorrigeerd werd voor het aantal testen [31]. Inmiddels zijn er verschillende ecologische studies gepubliceerd die geen correlatie tussen vroege BCG-vaccinatie en Covid-19 aantonen [32,33].

Terwijl de ecologische studies tegenstrijdige resultaten opleveren, suggereren de resultaten van een nog niet gepubliceerde gerandomiseerde klinische studie dat recente BCG-(re)vaccinatie mogelijk bescherming kan bieden tegen Covid-19. In een Grieks cohort bestaande uit volwassenen boven de 50 jaar met diverse vormen van comorbiditeit (n = 190) was BCG-revaccinatie geassocieerd met een reductie van de incidentie van Covid-19 van 68 procent (oddsratio 0,32, 95% BI 0,13-0,79) [34].

Gerandomiseerde placebogecontroleerde klinische onderzoeken met grote aantallen deelnemers zijn uiteindelijk nodig om het effect van BCG-vaccinatie op het aantal SARS-CoV-2-infecties en het beloop van Covid-19 vast te stellen. Wereldwijd lopen er momenteel meer dan 15 studies die het effect van BCG op Covid-19 onderzoeken (ClinicalTrials.gov). In Nederland zijn er drie placebogecontroleerde klinische onderzoeken gestart waarin het effect van BCG bij zorg-personeel, gezonde ouderen en ouderen met comorbiditeit (ClinicalTrials.gov NCT04417335, NCT04328441, NCT04537663) wordt onderzocht. Ook met de komst van effectieve Covid-19-specifieke vaccins zijn de uitkomsten van deze studies relevant. In de landen waar Covid-19-specifieke vaccins nog niet voorhanden zijn zou BCG-vaccinatie, bij gebleken effectiviteit, de periode kunnen overbruggen tot er Covid-19-specifieke vaccins beschikbaar zijn.

Daarnaast is de duur van de vaccinatierepons en de mate waarin de respons beïnvloed wordt door leeftijd en de aanwezigheid van comorbiditeit grotendeels onbekend. Verschillende studies hebben echter al aangetoond dat de bescherming van de Covid-19 specifieke vaccins na verloop van tijd sterk afneemt [35,36]. BCG-vaccinatie in combinatie met een Covid-19-specifiek vaccin versterkt mogelijk de immuunrespons en zou potentieel de duur van de beschermende vaccinatierepons kunnen verlengen.

### Conclusie

Het BCG-vaccin is al 100 jaar in gebruik ter bescher-

ming tegen tuberculose. De laatste jaren is er meer aandacht gekomen voor de niet-specifieke bescherming van het BCG-vaccin tegen infectieziekten die niet door mycobacteriën worden veroorzaakt. Bovendien is er meer duidelijkheid ontstaan over de onderliggende mechanismen die bijdragen aan de niet-specifieke beschermende effecten.

Hoewel er grote vooruitgang is geboekt, is verder onderzoek nodig. Gerandomiseerde placebogecontroleerde studies met grote aantallen deelnemers zijn noodzakelijk om de werkzaamheid van BCG op de incidentie en het beloop van infecties, waaronder Covid-19, bij volwassenen te beoordelen. Daarnaast zijn vervolgstudies nodig waarin onderzocht wordt hoe het effect van BCG-geïnduceerde getrainde immuniteit vergroot kan worden. De uitkomsten van deze studies leiden mogelijk tot nieuwe klinische toepassingen om infectieziekten te voorkomen en/of de ernst van infectieziekten te verminderen.

## Referenties

1. Trunz BB, Fine P, Dye C. Effect of BCG vaccination on childhood tuberculous meningitis and miliary tuberculosis worldwide: a meta-analysis and assessment of cost-effectiveness. *Lancet*. 2006;367:1173-80.
2. Mangtani P, Abubakar I, Ariti C, et al. Protection by BCG vaccine against tuberculosis: a systematic review of randomized controlled trials. *Clin Infect Dis*. 2014;58:470-80.
3. Kleinnijenhuis J, Quintin J, Preijers F, et al. Bacille Calmette-Guerin induces NOD2-dependent nonspecific protection from reinfection via epigenetic reprogramming of monocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2012;109:17537-42.
4. Moorlag SJCFM, Rodriguez-Rosales YA, Gillard J, et al. BCG Vaccination Induces Long-Term Functional Reprogramming of Human Neutrophils. *Cell reports*. 2020;33:108387-.
5. Netea MG, Dominguez-Andres J, Barreiro LB, et al. Defining trained immunity and its role in health and disease. *Nat Rev Immunol*. 2020;20:375-88.
6. Arts RJW, Carvalho A, La Rocca C, et al. Immunometabolic Pathways in BCG-Induced Trained Immunity. *Cell Rep*. 2016;17:2562-71.
7. Kleinnijenhuis J, Quintin J, Preijers F, et al. Long-lasting effects of BCG vaccination on both heterologous Th1/Th17 responses and innate trained immunity. *J Innate Immun*. 2014;6:152-8.
8. Cirovic B, de Bree LCJ, Groh L, et al. BCG Vaccination in Humans Elicits Trained Immunity via the Hematopoietic Progenitor Compartment. *Cell Host Microbe*. 2020;28:322-34.
9. Kaufmann E, Sanz J, Dunn JL, et al. BCG Educates Hematopoietic Stem Cells to Generate Protective Innate

Immunity against Tuberculosis. *Cell*. 2018;172:176-90.e19.

10. Naeslund C, Expérience de vaccination par le bcg dans la province du Norrbotten (Suède) *Revue de la Tuberculose*. 12:617-36.

11. Aaby P, Roth A, Ravn H, 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;204:245-52

12. Biering-Sørensen S, Aaby P, Lund N, et al. Early BCG-Denmark and Neonatal Mortality Among Infants Weighing <math>\geq 2500\text{ g}</math>: A Randomized Controlled Trial. *Clin Infect Dis*. 2017;65:1183-90.

13. Stensballe LG, Nante E, Jensen IP, 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;23:1251-7.

14. Berendsen ML, van Gijzel SW, Smits J, et al. BCG vaccination is associated with reduced malaria prevalence in children under the age of 5 years in sub-Saharan Africa. *BMJ Global Health*. 2019;4:e001862.

15. Stensballe LG, Sørup S, Aaby P, et al. BCG vaccination at birth and early childhood hospitalisation: a randomised clinical multicentre trial. *Archives of disease in childhood*. 2017;102:224-31.

16. Kjaergaard J, Birk NM, Nissen TN, et al. Nonspecific effect of BCG vaccination at birth on early childhood infections: a randomized, clinical multicenter trial. *Pediatric Research*. 2016;80:681-5.

17. Wardhana, Datau EA, Sultana A, et al. The efficacy of Bacillus Calmette-Guerin vaccinations for the prevention of acute upper respiratory tract infection in the elderly. *Acta Medica Indonesiana*. 2011;43:185-90.

18. Ohru T, Nakayama K, Fukushima T, et al. Prevention of elderly pneumonia by pneumococcal, influenza and BCG vaccinations. *Nihon Ronen Igakkai Zasshi*. 2005;42:34-6.

19. Giamarellos-Bourboulis EJ, Tsiilika M, Moorlag S, et al. Activate: Randomized Clinical Trial of BCG Vaccination against Infection in the Elderly. *Cell*. 2020;183:315-23.

20. Anderson FD, Ushijima RN, Larson CL. Recurrent herpes genitalis. Treatment with Mycobacterium bovis (BCG). *Obstet Gynecol*. 1974;43:797-805.

21. Hippmann G, Wekkeli M, Rosenkranz AR, et al. Nonspecific immune stimulation with BCG in Herpes simplex recidivans. Follow-up 5 to 10 years after BCG vaccination. *Wiener klinische Wochenschrift*. 1992;104:200-4.

22. Podder I, Bhattacharya S, Mishra V, et al. Immunotherapy in viral warts with intradermal Bacillus Calmette-Guerin vaccine versus intradermal tuberculin purified protein derivative: A double-blind, randomized controlled trial comparing effectiveness and safety in a tertiary care center in Eastern India. *Indian J Dermatol, Venereol Leprol*. 2017;83:411.

23. Arts RJW, Moorlag S, Novakovic B, et al. BCG Vaccination Protects against Experimental Viral Infection in Humans through



the Induction of Cytokines Associated with Trained Immunity. *Cell Host Microbe*. 2018;23:89-100 e5.

24. Walk J, de Bree LCJ, Graumans W, et al. Outcomes of controlled human malaria infection after BCG vaccination. *Nat Commun*. 2019;10:874.

25. Leentjens J, Kox M, Stokman 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;212:1930-8.

26. Ota MO, Vekemans J, Schlegel-Haueter SE, et al. Influence of *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guerin on antibody and cytokine responses to human neonatal vaccination. *J Immunol*. 2002;168:919-25.

27. Ritz N, Mui M, Balloch A, et al. Non-specific effect of Bacille Calmette-Guerin vaccine on the immune response to routine immunisations. *Vaccine*. 2013;31:3098-103.

28. Berg MK, Yu Q, Salvador CE, et al. Mandated Bacillus Calmette-Guérin (BCG) vaccination predicts flattened curves for the spread of COVID-19. *Sci Adv*. 2020;6(32):eabc1463.

29. Ozdemir C, Kucuksezer UC, Tamay ZU. Is BCG vaccination affecting the spread and severity of COVID-19? *Allergy*. 2020;75:1824-7.

30. Escobar LE, Molina-Cruz A, Barillas-Mury C. BCG vaccine protection from severe coronavirus disease 2019 (COVID-19).

*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2020;117:17720-6.

31. Hensel J, McAndrews KM, McGrail DJ, et al. Protection against SARS-CoV-2 by BCG vaccination is not supported by epidemiological analyses. *Scientific Reports*. 2020;10:18377.

32. Hamiel U, Kozler E, Youngster I. SARS-CoV-2 Rates in BCG-Vaccinated and Unvaccinated Young Adults. *Jama*. 2020;323:2340-1.

33. de Chaisemartin C, de Chaisemartin L. Bacille Calmette-Guérin Vaccination in infancy does not protect against coronavirus disease 2019 (COVID-19): Evidence from a natural experiment in Sweden. *Clin Infect Dis*. 2021;72:e501-e5.

34. Tsilika M, Taks E, Dolianitis K, et al. Activate-2: a double-blind randomized trial of bcg vaccination against covid19 in individuals at risk. *Medrxiv*. 2021:2021.05.20.21257520.

35. Pouwels KB, Pritchard E, Matthews PC, et al. Effect of Delta variant on viral burden and vaccine effectiveness against new SARS-CoV-2 infections in the UK. *Nature Medicine*. 2021;27:2127-35.

36. Goldberg Y, Mandel M, Bar-On YM, et al. Waning Immunity after the BNT162b2 Vaccine in Israel. *N Eng J Med*. 2021;385:e85.