

**KLINIKA CHORÓB ZAKAŻNYCH DZIECI
UNIwersYTETU MEDYCZNEGO w ŁODZI**
Kierownik: dr hab. n. med. Ewa Majda-Stanisławska
Wojewódzki Specjalistyczny Szpital im. dr Wł. Biegańskiego
91-347 Łódź, ul. Kniaźewicza 1/5 pawilon E
tel. (0-42) 251-60-18 fax. (0-42) 251-60-18 e-mail sekretariatcp@bieganski.com.pl

Łódź dnia 27.12.2023

Recenzja

Rozprawy doktorskiej lek. med. Pawła Zapolnika

pt. Analiza wpływu szczepienia BCG na częstość występowania oraz przebieg zakażeń SARS-CoV-2 wśród pracowników ochrony zdrowia w Polsce

Promotor dr hab. n. med. Hanna Czajka, prof. UR

Wybuch pandemii spowodowanej przez koronawirusa był zaskoczeniem dla świata medycyny i świata nauki. Wobec zagrożenia zdrowia i życia wielu ludzi gwałtownie poszukiwano metod, które zmniejszyłyby śmiertelność wynikającą z choroby COVID-19, jako że stworzenie leków przeciwwirusowych i szczepionek miało potrwać kilka miesięcy. Nasilenie objawów i śmiertelność choroby koronawirusowej była diametralnie różna w różnych krajach. Zjawisko to próbowano powiązać z wieloma czynnikami; jednym z nich było populacyjne szczepienie przeciwko gruźlicy szczepionką BCG. Naukowcy zauważyli, że w krajach nieprowadzących powszechnej profilaktyki gruźlicy odsetek ciężkiego przebiegu choroby jest wyższy w porównaniu z krajami od dawna stosującymi powszechnie tę profilaktykę. Podejrzewano również, iż istnieje korelacja pomiędzy okresem wprowadzenia powszechnych szczepień przeciw gruźlicy, a śmiertelnością z powodu COVID-19.

Szczepionka BCG, wyprowadzona przez francuskich naukowców Alberta Calmette'a oraz Camille'a Guerina ze szczepu prątka gruźlicy bydła *Mycobacterium bovis* stanowi jak dotychczas jedyny stosowany w kalendarzach szczepień preparat chroniący przed gruźlicą. Minęło już ponad 100 lat od jej opracowania (było to w 1921 roku) a od tego czasu na całym świecie podano miliardy dawek.

Poza zapobieganiem gruźlicy (jej skuteczność dotyczy głównie gruźlicy OUN) szczepionka BCG chroni w słabym stopniu przed zachorowaniem na trąd (około 26%). Znalazła zastosowanie w leczeniu wczesnych postaci raka pęcherza moczowego i okrężnicy (prawdopodobnie poprzez wywołanie miejscowej reakcji immunologicznej).

Nieoczekiwanym skutkiem ubocznym szczepienia przeciwko gruźlicy szczepionką BCG jest zwiększenie odporności na inne niż gruźlica choroby zakaźne (obserwacje przeprowadzone w Afryce wykazały, że śmiertelność zaszczepionych BCG noworodków była niemal o 40% niższa niż nieszczepionych). Przeprowadzona w Holandii analiza układu odpornościowego ochotników szczepionych BCG wykazała u nich zwiększoną produkcję cytokin oraz zwiększoną ekspresję genów kodujących wytwarzanie cytokin w porównaniu z grupą placebo. W oparciu o te obserwacje ocena wpływu szczepienia BCG na częstość występowania i ciężkość przebiegu zakażeń SARS-CoV-2 wydawała się uzasadniona.

W Polsce szczepienia dzieci przeciwko gruźlicy szczepionką BCG są realizowane od lat 50 XX wieku. Odsetek zaszczepionych był od początku wprowadzenia obowiązkowych szczepień niezmiennie wysoki (przekraczający 96%). Aktywni zawodowo pracownicy służby zdrowia w Polsce stanowili w trakcie trwania pandemii (2019 – 2022) dość jednorodną grupę badaną – w szczególności sposób narażonych na zakażenie i zaszczepionych w dzieciństwie szczepionką BCG. Ocena odporności na zakażenie COVID-19 tej grupy zawodowej stała się przedmiotem analizy w recenzowanej pracy doktorskiej. Jej celem było zweryfikowanie hipotezy, czy ponowne szczepienie przeciw gruźlicy szczepionką BCG ma wpływ na częstość zakażeń wirusem SARS-CoV-2, oraz na przebieg choroby COVID-19.

Ocena metodologiczna i merytoryczna pracy

Rozprawa doktorska obejmuje cykl dwóch publikacji oryginalnych oraz jednej pracy przeglądowej, które zostały opublikowane w latach 2021-2022. Prace zostały opublikowane w czasopiśmie posiadającym Impact Factor. Łączny wskaźnik wpływu prac włączonych do rozprawy doktorskiej wynosi 15,591, a punktacja MNiSW wynosi 420 punktów. Dodatkowo doktorant podaje pierwsze autorstwo ośmiu oraz współautorstwo trzech prac o sumarycznym IF = 35,497 oraz łącznej liczbie punktów MNiSW/MEiN = 1180, a także 8 wystąpień zjazdowych.

Prace, które wchodzi w skład pracy doktorskiej.

Prace oryginalne:

1. Zapolnik P, Kmieciak W, Nowakowska A, Krzych ŁJ, Szymański H, Stopyra L, Jackowska T, Darmochwał-Kolarz D, Mazur A, Czajka H. A Multi-Centre, Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase III Clinical Trial Evaluating the

**KLINIKA CHORÓB ZAKAŻNYCH DZIECI
UNIwersytetu Medycznego w Łodzi
Kierownik: dr hab. n. med. Ewa Majda-Stanisławska
Wojewódzki Specjalistyczny Szpital im. dr Wł. Biegańskiego**

91-347 Łódź, ul. Kniaźewicza 1/5 pawilon E
tel. (0-42) 251-60-18 fax. (0-42) 251-60-18 e-mail sekretariatcp@bieganski.com.pl

Impact of BCG Re-Vaccination on the Incidence and Severity of SARS-CoV-2 Infections among Symptomatic Healthcare Professionals during the COVID-19 Pandemic in Poland-Evaluation of Antibody Concentrations. *Vaccines* (Basel). 2022 Dec 29;11(1):75.

IF = 4,961; MEiN = 140

2. Czajka H, Zapolnik P, Krzych Ł, Kmiecik W, Stopyra L, Nowakowska A, Jackowska T, Darmochwał-Kolarz D, Szymański H, Radziejewicz-Winnicki I, Mazur A. A Multi-Center, Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase III Clinical Trial Evaluating the Impact of BCG Re-Vaccination on the Incidence and Severity of SARS-CoV-2 Infections among Symptomatic Healthcare Professionals during the COVID-19 Pandemic in Poland-First Results. *Vaccines* (Basel). 2022 Feb 17;10(2):314.

IF = 4,422; MEiN = 140

Praca poglądowa

3. Zapolnik P, Kmiecik W, Mazur A, Czajka H. Trained Immunity, BCG and SARS-CoV-2 General Outline and Possible Management in COVID-19. *Int J Mol Sci*. 2023 Feb 6;24(4):

IF = 6,208; MEiN = 140

Załączone prace poprzedzone są wprowadzeniem, w którym doktorant przedstawił uzasadnienie podjęcia tematu pracy, jej założenia i cele, przebieg, a także wyniki i wnioski. W końcowej części dysertacji doktorant zamieścił streszczenia w języku polskim i angielskim oraz oświadczenia współautorów o uznaniu, że przedłożone prace stanowią indywidualny wkład doktoranta w rozwój nauk medycznych oraz zgody na użycie tych publikacji do grupy stanowiących jego osiągnięcie naukowe. Doktorant jest pierwszym autorem dwóch, drugim autorem trzeciej pracy.

Celem rozprawy doktorskiej było zweryfikowanie hipotezy, czy ponowne szczepienie przeciw gruźlicy szczepionką BCG ma wpływ na częstość zakażeń wirusem SARS-CoV-2 oraz

na przebieg choroby COVID-19. Ponadto podjęto próbę zweryfikowania hipotezy, że wcześniejsze podanie szczepionki BCG wzmacnia odpowiedź serologiczną po szczepieniu przeciw COVID-19.

Powyższe hipotezy zostały zweryfikowane poprzez następujące analizy:

- 1) analiza liczby przypadków zakażenia SARS-CoV-2 (potwierdzonych metodą reakcji łańcuchowej polimerazy (ang. polymerase chain reaction, PCR) wśród uczestników badania – pracowników ochrony zdrowia;
- 2) zbadanie występowania zależności pomiędzy liczbą potwierdzonych infekcji SARS-CoV-2 oraz wynikiem testu tuberkulinowego, ilością blizn po szczepieniach BCG, a także wykonywanym zawodem medycznym;
- 3) ocenę stężeń przeciwciał anti-SARS-CoV-2 w badanych grupach uczestników;
- 4) analizę zależności między stężeniami przeciwciał anti-SARS-CoV-2 a płcią, wiekiem oraz wskaźnikiem masy ciała (ang. Body Mass Index, BMI) uczestników;
- 5) ocenę stężeń przeciwciał anti-SARS-CoV-2 wśród objawowych i bezobjawowych uczestników badania – określenie serokonwersji objawowej i bezobjawowej;
- 6) ocenę wpływu wcześniejszego szczepienia BCG na odpowiedź na szczepienia przeciwko COVID-19 poprzez analizę stężeń przeciwciał anti-SARS-CoV-2 po otrzymaniu przez wybranych uczestników badania szczepionki Comirnaty® (Pfizer/BioNTech, USA/Niemcy).

W pierwszej pracy pt. A Multi-Center, Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase III Clinical Trial Evaluating the Impact of BCG Re-Vaccination on the Incidence and Severity of SARS-CoV-2 Infections among Symptomatic Healthcare Professionals during the COVID-19 Pandemic in Poland-First Results przedstawiono wyniki badania przeprowadzonego u 695 pracowników służby zdrowia w wieku od 25 lat. Wszyscy uczestnicy badania mieli założoną próbę tuberkulinową; wszyscy z ujemną próbą tuberkulinową zostali zrandomizowani w proporcji 1:1 do otrzymania szczepionki BCG lub placebo. Od tego czasu podlegali 3 miesięcznej obserwacji co do wystąpienia objawów zakażenia COVID-19. Kolejnym elementem analizy w pierwszym etapie badania była ocena stężenia przeciwciał anti-SARS-CoV-2 w klasie IgG i serokonwersji u badanych osób. Serokonwersja została wykryta u 150 uczestników badania, natomiast stężenia przeciwciał nie różniły się znacząco między trzema badanymi grupami i nie wykazano istotności statystycznej. Podobnie, nie stwierdzono znamienności w różnicach w serokonwersji w grupie uczestników badania, którzy przeszli chorobę COVID-19 objawowo i bezobjawowo.

Dodatkowa analiza nie wykazała występowania zależności między stężeniem przeciwciał a dodatnim wynikiem testu tuberkulinowego. **Analiza statystyczna nie wykazała żadnej znaczącej korelacji pomiędzy częstością występowania objawów choroby spowodowanej przez COVID-19 a szczepieniem BCG, wynikiem próby tuberkulinowej lub liczbą blizn. Jedyną różnicę statystycznie znamionną znaleziono dla częstszych zachorowań na COVID-19 w grupie pielęgniarek w porównaniu z grupą lekarzy ($p = 0.02$).**

W kolejnej pracy pt A Multi-Centre, Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled Phase III Clinical Trial Evaluating the Impact of BCG Re-Vaccination on the Incidence and Severity of SARS-CoV-2 Infections among Symptomatic Healthcare Professionals during the COVID-19 Pandemic in Poland-Evaluation of Antibody Concentrations. Uczestnicy – pracownicy służby zdrowia byli obserwowani w 1-2 miesiące oraz w 8 miesięcy po drugiej dawce szczepionki przeciw COVID-19 Comirnaty® (Pfizer/BioNTech, USA/Niemcy). Autor stwierdził, że nie istnieje związek pomiędzy stężeniem przeciwciał poszczepiennych, a rewakcynacją BCG, wiekiem, płcią lub BMI uczestników badania.

Trzecia załączona w cyklu praca - przeglądowa została opracowana w oparciu o 68 pozycji zagranicznego piśmiennictwa pochodzącego z lat 2007-2023, przy czym większość z nich pochodzi z lat 2019-2023.

Doktorant przedstawił w niej rys historyczny opracowania szczepionki BCG oraz mechanizmy immunologiczne odporności wrodzonej, swoistej odpowiedzi na szczepienie przeciwgruźlicze oraz zjawiska „trained immunity” (odporności wytrenowanej) czyli adaptacji układu odporności wrodzonej po pierwszym kontakcie z patogenem i jego bardziej efektywnej reakcji po każdym kolejnym kontakcie. Autor szczegółowo opisał powstawanie zjawiska odpowiedzi immunologicznej w miejscu szczepienia BCG uogólnienia tej odporności na cały organizm osoby szczepionej.

Autor przedstawił także publikacje omawiające działanie odporności wytrenowanej w innych niż szczepienia BCG kontekstach: syntezie cholesterolu, w stosowaniu diety tzw „zachodniej” (Western Diet), zakażeniach *Candida albicans* oraz *Staphylococcus aureus*.

Autor zanalizował wyniki 12 publikacji omawiających związek pomiędzy szczepieniem BCG a zakażeniami COVID-19. W siedmiu z nich wykazano korzyść szczepienia BCG dla załagodzenia przebiegu COVID-19.

Choć wyniki powyższych badań nadal pozostają niepełne i niejednoznaczne, pilna potrzeba opanowania zachorowań w pandemii COVID w pełni uzasadniała podjęcie tematu doktoratu, a także skonstruowania badania klinicznego, z jednolitymi kryteriami włączenia i wykluczenia pacjentów z badania i jednolitym trybem ich obserwacji.

Podsumowanie.

Przedstawiona mi do recenzji na podstawie cyklu publikacji praca doktorska lek. Pawła Zapolnika „**Analiza wpływu szczepienia BCG na częstość występowania oraz przebieg zakażeń SARS-CoV-2 wśród pracowników ochrony zdrowia w Polsce**” stanowi logicznie uporządkowany zbiór badań na wybrany temat.

Na podstawie przeprowadzonego badania oraz analizy statystycznej uzyskanych wyników doktorant dowiódł, że w badanej przez niego grupie pracowników służby zdrowia zastosowanie w przeszłości oraz rewakcynacja szczepionką BCG nie miała wpływu na zachorowalność na COVID-19. Szczepienie BCG nie zwiększało także stężenia swoistych przeciwciał po podaniu szczepionki przeciw COVID-19. Zwraca uwagę oryginalne i odmienne niż u innych naukowców podejście do działania szczepionki BCG: autor nie porównuje grupy szczepionych i nieszczepionych (prawdopodobnie dobranie grupy nieszczepionych byłoby w warunkach polskich bardzo trudne), ale posługuje się testem tuberkulinowym jako wskaźnikiem odpowiedzi komórkowej powstałej w wyniku szczepienia. Pacjentów z ujemnym wynikiem próby tuberkulinowej poddaje rewakcynacji i bada jej wpływ na odpowiedź przeciwko COVID-19. Ten element konstrukcji badania także stanowi nowatorską koncepcję autora.

Publikacje, które doprowadziły do w/w wniosków są napisane w oparciu o rzetelne badania, przeprowadzone na dużych grupach pacjentów, przy zastosowaniu jednorodnych kryteriów włączenia i wyłączenia. Poprzedzone zostały wnikliwą analizą zagadnienia odporności wytrenowanej w różnych kontekstach tego zjawiska. Opublikowałam je w czasopismach o wysokim wskaźniku wpływu.

W mojej ocenie przedstawiony cykl prac spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce.

**KLINIKA CHORÓB ZAKAŻNYCH DZIECI
UNIwersYTETU MEDYCZNEGO w ŁODZI**

Kierownik: dr hab. n. med. Ewa Majda-Stanisławska

Wojewódzki Specjalistyczny Szpital im. dr Wł. Biegańskiego

91-347 Łódź, ul. Kniaziewiczza 1/5 pawilon E

tel. (0-42) 251-60-18 fax. (0-42) 251-60-18 e-mail sekretariatcp@bieganski.com.pl

Zwracam się z prośbą do Wysokiej Rady Kolegium Nauk Medycznych, Instytutu Nauk Medycznych, Uniwersytetu Medycznego w Rzeszowie o dopuszczenie pracy do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

KIEROWNIK
Kliniki Chorób Zakaźnych Dzieci
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
Majda
dr hab. n. med. Ewa Majda-Stanisławska

