

Aşılar ve Mikrobiyota

Vaccines and Microbiota

• Melda ÇELİK, • Sıddıka Songül YALÇIN

Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Sosyal Pediatri Bilim Dalı, Ankara, Türkiye



ÖZ

Aşılama enfeksiyon hastalıkları yükünü azaltan temiz su erişiminden sonra ikinci en önemli yöntemdir. Aşı etkinliği bireyler arasında farklılık göstermektedir. Mikrobiyotanın immün sistemin gelişmesinde birçok role sahip olduğunun gösterilmesi aşı etkinliğinde de rol oynayabileceğini düşündürmüştür. Bu derlemede, mikrobiyotanın aşı yanıtları üzerine etkileriyle ilgili yayınları özetlemeyi hedefledik. Bazı çalışmalar, bağırsak mikrobiyotasının farklı üyelerinin belli immün hücre bölümlerinin gelişimini düzenleyerek sistemik bir etki yaptığını göstermiştir. Ayrıca yapılan çalışmaların sonuçları gelişmekte olan ülkelerde aşıların etkinliğinin gelişmiş ülkelere göre daha az olmasında mikrobiyotanın bozulmasının etkili olabileceğini düşündürmektedir. Birçok çalışma probiyotiklerin uygulanmasının ardından serum antikorlarının arttığını göstermekle birlikte, bu yanıtlar plasebo kontrollerdeki yanıtlardan anlamlı olarak daha yüksek bulunmamıştır. Bazı probiyotikler bir aşı için özgül etkiler göstermekle birlikte diğer aşılarla etkisiz olmuştur. İnsanlarda yapılan çalışmalarda prebiyotik kullanımının aşı etkinliğine etkisi gösterilememiştir. Mikrobiyotanın immün sistemin gelişimindeki merkezi rolü nedeniyle, mikrobiyotanın aşı etkinliği üzerinde etkili olması olağandır. Ancak şimdiye kadar az sayıda veri bulunmaktadır. Burada özetlenen çalışmalar belli ölçüde aşı-mikrobiyota ilişkisini göstermekle birlikte, bu konuyla ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Anahtar Sözcükler: İmmün sistem, Mikrobiyota, Prebiyotik, Probiyotik

ABSTRACT

Objective: Vaccination is the second most important method after access to clean water that reduces the burden of infectious diseases. Vaccine efficacy varies among individuals. The fact that microbiota has many roles in the development of the immune system has suggested that it may play a role in vaccine efficacy. In this review, we aimed to summarize publications about the effects of microbiota on vaccine responses. Some studies have shown that different members of the gut microbiota have a systemic effect by regulating the development of certain immune cell segments. In addition, the results of the studies suggest that microbiota deterioration may be effective on the lower efficacy of vaccines in developing countries than developed countries. Although many studies showed that serum antibodies increased after the application of probiotics, these responses were not significantly higher than the placebo controls. Some probiotics show specific effects for a vaccine but have been ineffective for others. In human studies, the effect of prebiotic use on vaccine efficacy has not been demonstrated. Due to the central role of microbiota in the development of the immune system, it is common for the microbiota to have an impact on the efficacy of the vaccine. However, there are few data to date. Although the studies summarized here indicate a certain degree of vaccine-microbiota relationship, further studies are needed.

Key Words: Immune system, Microbiota, Prebiotic, Probiotic

GİRİŞ

Aşılama enfeksiyon hastalıkları yükünü azaltan temiz su erişiminden sonra ikinci en önemli yöntemdir ve dünyada yılda 6 milyon ölümü önlediği tahmin edilmektedir. Ancak aşının geliştirdiği bağışıklık yanıtı bireyler arasında belirgin

farklılıklar gösterebilmektedir (1). Aşı yetersizliğinde genetik (HLA haplotipleri), maternal antikor geçişi, artmış antijen yükü, malnutrisyon, besin eksikliği, antibiyotik kullanımı, paraziter hastalıklar gibi birçok faktör etki etmektedir (2). Mikrobiyotanın immün sistemin gelişmesinde birçok role sahip olduğunun gösterilmesi aşı etkinliğinde de rol oynayabileceğini

Yazışma Adresi / Correspondence Address:

Melda ÇELİK
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı,
Sosyal Pediatri Bilim Dalı, Ankara, Türkiye
E-posta: meldaoczk@gmail.com

Geliş tarihi / Received : 08.01.2019
Kabul tarihi / Accepted : 09.04.2019
Elektronik yayın tarihi : 08.08.2019
Online published
DOI: 10.12956/tchd.509182

düşündürmüştür (3,4). Bu derlemede, mikrobiyotanın aşı yanıtları üzerine etkileriyle ilgili yayınları özetlemeyi hedefledik.

Literatürde bulunan mikrobiyota ve immün sistem ilişkisi, mikrobiyotanın, mikrobiyota tarafından üretilen metabolitlerin, antibiyotiklerin, anne sütünün, probiyotiklerin ve prebiyotiklerin aşı etkinliği üzerine etkisi, aşının mikrobiyota üzerine etkisi ve probiyotiklerin aşı adjuvanı olarak kullanılması ile ilgili başta gebeler, yenidoğan bebekler ve çocuklarda yapılmış çalışmalar olmak üzere önemli sonuçları olan bazı erişkin çalışmaları incelenmiş ve bu derlemeye alınmıştır.

1. Mikrobiyota ve İmmün Sistem İlişkisi

Yenidoğan bebeklerde intestinal mikrobiyom gelişmesinde gestasyonel yaş, doğum şekli, bebeğin emzirilmesi, pre- veya probiyotiklerin kullanımı ve annenin beslenmesi ve annenin ağırlığı rol oynamaktadır (5-7). Antibiyotik maruziyeti konak mikrobiyotasının kompozisyonunu belirgin şekilde değiştirerek mikrobiyomun çeşitliliğinde uzun süreli azalma ve bozulmaya (disbiyozis) neden olmaktadır (8,9). Gebelik sırasında antibiyotik kullanımı bebek mikrobiyotasını en az 3 ay etkilemektedir (10). Yenidoğanın immün sisteminin programlanmasında gelişen bağırsak mikrobiyomu anahtar rol oynamaktadır ve mikrobiyomun bozulması sistemik immüniteyi anlamlı şekilde etkileyebilmektedir. Farelerde mikrobiyotanın erken postnatal dönemde doğal ("innate") bağışıklık gelişiminde anahtar bir rol oynadığı gösterilmiştir (5). Yenidoğanın antibiyotik maruziyeti de prematüre bebeklerde geç-başlangıçlı sepsis duyarlılığının artmasıyla ilişkilendirilmiştir (11). Mikrobiyota ayrıca helper T ve regülatuar T hücre yanıtlarının düzenlenmesiyle birlikte adaptif immün yanıtların şekillendirilmesinde anahtar bir rol oynamaktadır (12). Sağlıklı yetişkin insanların bağırsak mikrobiyomunun kompozisyonu ve fonksiyonundaki bireyler arası farklılıkların da mikrobiyal uyaranların etkisiyle kandaki inflamatuvar sitokin üretimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (13).

Mikrobiyota ile immün sistem arasındaki karşılıklı etkileşimi tamamen özel steril koşullarda yetiştirilmiş ve bağırsakları hiçbir mikropla karşılaşmamış "germ-free" (GF) farelerde araştırılmıştır (14). GF farelerin hiçbir mikropla karşılaşmamış bağırsaklarının geleneksel yöntemlerle üretilmiş, bağırsakları patojen olmayan mikroplarla karşılaşmış "spesifik patojen-free" (SPF) farelerin mikrobiyotasıyla kolonizasyonu sağlanmıştır. Böylelikle GF farelerin gastrointestinal sistemlerinin mukozal immün fonksiyonlarının iyileştiği gösterilmiştir. Bu durum, bağırsak-ilişkili lenfoid dokunun (GALT) gelişmesi ve olgunlaşması için bağırsak mikrobiyotasının gerekliliğini kanıtlamaktadır (15). Bazı çalışmalar, bağırsak mikrobiyotasının farklı üyelerinin belli immün hücre bölümlerinin gelişimini düzenleyerek sistemik bir etki yaptığını göstermiştir (1,2). Bununla birlikte, mikrobiyal metabolitlerin de bağırsakta hücresel ağlara etki ederek mikrobiyomun immün yanıtları yönlendirebildiği gösterilmiştir (1,3).

Doğuştan gelen ve adaptif immün bileşenler mikrobiyal kompozisyon tarafından düzenlenir (2,3). Toll-like reseptörler (TLR) ve nükleotid-bağlayan oligomerizasyon domaini (NOD)

aracılığıyla mikropların algılanması bağırsak mikrobiyal homeostazını sağlamak için çok önemlidir (2). Fare çalışmalarında, bu reseptörleri ve/veya sinyal uyum proteinleri (MyD88 gibi) olmayan farelerde mikrobiyotanın farklı veya disbiyotik olduğu ve birçok vakada hastalığı tetiklediği tespit edilmiştir (16). Bu "disbiyotik mikrobiyota" vahşi tip konakçılara transfer edildiğinde de hastalığın oluştuğu görülmüştür (17). Salgısal IgA gibi adaptif yanıtların da mikrobiyota üzerine etkisi vardır. IgA mikroorganizmaların bağırsak lümeninde sınırlandırılmasında çok önemlidir. IgA eksikliği olan farelerde intestinal bariyerden mikrobiyota geçişin arttığı ve mikroba özgü serum IgG düzeylerinin arttığı gözlenmiştir (18).

Konakçı ve yerleşik mikrobiyal topluluğun yani mikrobiyotanın yeni bir süperorganizma olarak kabul edilmesi hastalık oluşumu ve tedavi algısını değiştirmektedir. Bu durum, aşı ve adjuvanlar geliştirilirken ve aşı yanıtlarının değerlendirilmesinde de mikrobiyotanın da göz önüne alınması gerektiğini düşündürmektedir.

2. Mikrobiyotanın Aşı Etkinliği Üzerine Etkisi

Mikrobiyomun immün sistemi etkileme yollarına dair giderek artan bilgi birikiminin yanında mikrobiyomun aşı yanıtlarına etkisi konusunda sınırlı sayıda yayın bulunmaktadır.

Erişkinlerde intestinal mikrobiyotanın bileşim, filum düzeyi ve toplam fonksiyon açısından hayat boyu stabil kaldığı saptanmıştır. Ancak çocuklarda mikrobiyal bileşenler iki yaşına kadar çok değişkendir ve çevresel maruziyetlere çok duyarlıdır. Bu durum, gelecekteki immün yanıtları etkileyebilir (2,3). Malnutrisyon, genetik özellikler, sosyoekonomik durum, enfeksiyon hastalıkları, doğum şekli, doğum haftası, çocuğun veya gebelikte annenin antibiyotik kullanımı ve probiyotik kullanımı bağırsak mikrobiyal topluluklarını değiştirerek de aşı etkinliğini etkileyebilir (1). Buna göre büyük ihtimalle bağırsak mikrobiyomunun bebeklik döneminde yapılan aşılarla karşı gelişen immün yanıtı etkisi yaşamın ilerleyen döneminde yapılanlara göre daha fazladır (19).

Yetişkin gönüllülerle yapılan bir çalışmada uygulanan oral canlı zayıflatılmış *Salmonella Typhi* (Ty21a) aşısının intestinal mikrobiyotanın kompozisyonunu, çeşitliliğini veya stabilitesini bozmadığı görülmüştür (20). Aşıyla ilişkili yanıtlar kandaki CD8+ hücrelerdeki IFN- γ ve *S. typhi* LPS'ye karşı serum IgG ve IgA titreleri ölçülerek değerlendirilmiştir. Altı aşılanmış bireyden dördünde aşılama sonrası artmış IFN- γ yanıtları görülmüştür. Bu bireylerin, aşılanmış ve daha düşük IFN- γ yanıtı olan iki bireye göre daha fazla mikrobiyota çeşitliliği ve zenginliği gösterdikleri belirlenmiştir. Ayrıca, IFN- γ düzeyleri yüksek bireylerin mikrobiyotasında daha yüksek oranda *Clostridium* türü bakteriler bulunmuştur. Bu çalışmada, aşı etkinliğinin kommensal mikrobiyota topluluğunun kompozisyonu ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür (19).

Başka bir çalışmada, farklı coğrafi bölge kökenli (farklı genetik yapıda ve farklı MHC allel yapısına sahip) makakların

canlı zayıflatılmış *Shigella dysenteriae* aşısı sonrası vahşi tip *S.dysenteriae* ile karşılaşmaya verdikleri yanıt değerlendirilmiştir (21). Makakların gaita mikrobiyotalarının aşılama sırasında ve vahşi tip *S.dysenteriae* ile karşılaşma sonucu değiştiği de gösterilmiştir. Vahşi tip *S. dysenteriae* ile karşılaşma sonucunda korunması artmış olanların intestinal mikrobiyota kompozisyonunun yüksek derecede çeşitlilik gösterdiği tespit edilmiştir. Çalışma, daha fazla çeşitliliğe sahip bir intestinal mikrobiyotanın enterik patojenlere yanıtta koruyucu bir rol oynayabileceği sonucuna varmıştır (20).

Hallander ve ark.'nın (22) 2002'de yaptığı bir çalışmada oral ölü kolera aşısına antikor yanıtının uygun hijyen koşulları ve düşük enfeksiyon hızlarının olduğu İsveç gibi batılı bir toplumda, Nikaragua gibi kötü hijyen ve artmış enterik hastalık yükünün olduğu bir ülkeye göre iki kat daha fazla olduğu gösterilmiştir. Levine ve ark. (23) 2010 yılında yaptıkları derlemede fekal-oral bakteriyel maruziyetin immün yanıtları baskılayarak oral kolera aşılarının etkinliğini azalttığını ortaya koymuştur. Benzer şekilde, kötü hijyen koşullarına sahip gelişmekte olan ülkelerde rotavirus aşılarının etkinliğinin endüstrilemiş ülkelere göre daha düşük olduğu kanıtlanmıştır (24, 25). Grassly ve ark. (26), 2009 yılında, Kuzey Hindistan'ın yoksul bölgelerindeki çocukların, daha iyi hijyen koşullarına sahip ve daha zengin diğer bölgelerdekilere göre oral polio aşısına daha düşük mukozal immün yanıt geliştirdiğini göstermişlerdir. Aşının viral ya da bakteriyel olmasından bağımsız olarak gelişen immün yanıt kötü hijyen koşullarının olduğu yerlerde dikkat çekici şekilde zayıftır. Bu durum, gelişmekte olan ve kötü hijyen şartlarına sahip bölgelerde fekal-oral bakteriyel maruziyetin hayatın erken döneminde olmasına bağlanmıştır. Beslenme de bu durumla ilişkili bir bileşen olabilir. Ancak, 2011 ve 2012 yıllarında Bangladeş'te benzer şekilde beslenen toplumlarda, oral kolera aşısına karşı gelişen antikor yanıtlarının çok geniş bir yelpazede yer aldığı ve sadece besin eksikliğiyle açıklanamadığı bildirilmiştir (1). Çocuklarda bu etkilerin asıl sorumlusunun "çevresel enteropati" olduğu öne sürülmektedir (27). Çevresel enteropati, bilinen bir enfeksiyöz etkenden bağımsız olarak, ince bağırsakta villuslarda küntleşme ve artmış intestinal geçirgenlik ile ince bağırsak bariyerinin disfonksiyonu ve kronik intestinal enflamasyondur (24). Çevresel enteropati, subklinik kronik inflamatuvar bir durum olup, çocukta ishali bir hastalık geçirmeden bile malabsorbsiyon, malnutrisyon ve büyüme geriliği ile sonuçlanabilir (24). Çevresel enteropati gözlenen çocuklarda ince bağırsak mikrobiyotası değişmiş ve disbiyotiktir. Bu vakalarda genellikle *Klebsiella*, *E.coli* ve *Bacteroides* gibi gram-negatif patobiyotların (çevre koşulları değiştiğinde hastalığa yol açabilen simbiyotik mikroorganizmalar) aşırı çoğalması görülmektedir (28). Çevresel enteropati etiyojisi bilinmese de, kirli su ve yiyeceklere yüksek derecede maruz kalan bölgelerde yaşayan bireylerin çok çeşitli patojen mikroorganizmalara maruz kalmasının etkisinin olduğu düşünülmektedir. Benzer şekilde Güney Afrika'nın fakir bölgelerindeki çocukların, Kanadalı çocuklara göre mikrobiyal uyarılara karşı sitokin yanıtlarının önemli derecede düşük olduğu saptanmıştır (29). Bu durum, kötü hijyen koşullarında

patojen mikroorganizmalara temasın immün sistemde ve antijen maruziyetine yanıtta değişiklikler meydana getirebileceğini düşündürmektedir (30). Ayrıca mikrobesein eksiklikleri, yüksek HIV ve tüberküloz insidansları, aşılama öncesinde anneden plasenta ya da anne sütü yoluyla geçen daha yüksek düzeylerdeki immünoglobülinlerin de gelişmekte olan ülkelerde azalmış aşı yanıtına etkisi olabileceği öne sürülmüştür (31, 32).

Huda ve ark. (33), Bangladeşli 48 çocukta aşı etkinliğinde mikrobiyotanın etkisini araştırmıştır. Gaita mikrobiyotası 6, 11 ve 15. haftalarda rRNA gen amplifikasyonu ve sekanslaması ve *Bifidobacterium*'a özgül kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu ile tanımlanmıştır (33). Çalışma da 15. haftada BCG gecikmiş tip hipersensitivite deri testi yanıtı, OPV, TT ve hepatit B virusu için IgG aşı yanıtları ve her aşıya özgül T-hücre proliferasyonu ve timik indeks ultrasonla değerlendirilmiştir. Gaita mikrobiyotasında başlangıçta *Actinobacteria* (daha çok *Bifidobacterium longum subspecies infantis*) baskın bulunmuş ve 15. haftada *Proteobacteria* ve *Bacteroidetes* artmıştır. *Actinobacteria* fazlalığı BCG, OPV ve TT'ye T hücre yanıtlarıyla; IgG yanıtlarıyla; geç tip hipersensitivite yanıtı ve timik indeks ile pozitif ilişkili bulunmuştur. Bakteriyel çeşitlilik ve *Enterobacteriales*, *Pseudomonadales* ve *Clostridiales*'in aşırı çoğalması nötrofil ve azalmış aşı yanıtları ile ilişkili bulunmuştur. *Bifidobacterium* baskınlığının erken bebeklik döneminde timik gelişimi ve T hücre proliferasyonunu arttırarak hem oral hem parenteral aşı yanıtlarını arttırabildiği, bu paternden sapmanın ise daha geniş bakteriyel çeşitlilikle sonuçlanarak sistemik inflamasyon (nötrofil) ve daha düşük aşı yanıtlarına yol açabildiği bulunmuştur (30). Erken bebeklik döneminde düşük çeşitlilikle birlikte *Bifidobacterium* baskınlığı bebeğin sağlığı için uygun olabilir ancak yaşamın ilerleyen dönemlerinde diyet daha fazla çeşitlendiğinde yüksek çeşitlilik daha yararlı olabilir. Aşı yanıtılığı erken bebeklik döneminde bifidobakterilerin çoğalmasını destekleyen oligosakkaritlerden zengin anne sütüyle beslenmenin desteklenmesiyle çeşitliliği sınırlayan intestinal bifidobakterilerin arttırılması ve disbiyozisin en aza indirgenmesiyle iyileştirilmesi mümkün olabilir (30). Bu sonuçlar, gelişmekte olan ülkelerde aşılama etkinliğinin gelişmiş ülkelere göre daha az olmasında mikrobiyotanın bozulmasının etkili olabileceğini düşündürmektedir (30).

Harris ve ark.'nın (34) Gana'da yaptığı başka bir çalışmada oral rotavirus aşısına yanıtı olan (üçüncü aşı dozundan dört hafta sonra serum rotavirus IgA düzeyleri ≥ 20 IU/ml) ve yanıtı olmayan 39 vakanın bağırsak mikrobiyota kompozisyonları değerlendirilmiştir. Çalışmada aşı yanıtı olan vakalarda üçüncü aşı dozundan önce alınan gaita örneklerinde *Streptococcus gallolyticus*'un göreceli olarak arttığı, *Bacteroidetes* filumunun azaldığı ve *Enterobacteria-Bacteroides* oranının arttığı bulunmuştur. Aşı yanıtı olmayan ve olmayan vakalar arasında intestinal mikrobiyota çeşitliliği açısından anlamlı fark bulunmamıştır.

Mullie ve ark.'nın (35) Fransa'da fermente formüle veya standart formüle verilen 20 bebekte yaptıkları çalışmada intramüsküler pentavalan difteri-tetanoz-asellüler boğmaca-inaktif polio-*Haemophilus influenzae* tip b aşılama sonrasında fekal polio-

spesifik IgA ve fekal bifidobakteri düzeyleri bakılmıştır (35). Fekal polio-spesifik IgA düzeylerinin fekal bifidobakteri düzeyleriyle -özellikle de *B. longum/B. infantis* ve *B. Breve*- korele olduğu ve fekal *B. longum/B. infantis* düzeyleri daha yüksek olan bebeklerde polio-spesifik IgA düzeylerinin de anlamlı şekilde daha yüksek olduğu gözlenmiştir ($p < 0.02$).

Malnütrisyona intestinal mikrobiyota bileşiminde *Proteobacteria*'nin artması ve büyüme hızının azalmasını içeren yaygın etkileri olduğunu bildirilmiştir (1). Bir çalışmada, çölyak hastalığı olan bireylerde hepatit B aşısına karşı gelişen serum Ig G antikorlarının aktif hastalığı olan vakalarda azaldığı gösterilmiştir (36). Bu da, konakçının genetik komponentinin etkisi olasılığını azaltmaktadır. Malnütrisyona vakalarında bağırsak patobiyotlarının ve inflamatuvar medyatörlerinin aşı antijenlerinin immün yanıtlarını etkileyebileceği öne sürülmektedir (1).

Mikrobiyotanın aşı etkinliği üzerine hem çocuklarda hem de yetişkinlerde yapılan çalışmalar *Actinobacteria* filumunun (*Actinomycetales*, *Coriobacteriaceae* ailesi, *Corynebacterium* ve *Rothia* ve özellikle *B. longum* türleri) göreceli fazlalığının oral ve parenteral aşılar da daha yüksek humoral ve hücresele yanıtlarla ilişkili olduğunu (30, 32), filum *Proteobacteria*'nin (*Enterobacteriales* ve *Pseudomonadales* sınıfları) göreceli fazlalığının bu aşılar da daha düşük yanıtlarla ilişkili olduğunu göstermiştir (30). Bununla birlikte, bebekler ve yetişkinlerde filum *Firmicutes*'in (*Lachnospiraceae* ve *Ruminococcaceae* aileleri ve *S. Gallolyticus* türleri) göreceli fazlalığı oral aşılar da daha yüksek humoral ve hücresele yanıtlarla ilişkili, bebeklerde *Bacteriodes* filumunun göreceli fazlalığı ise oral aşılar da daha düşük humoral yanıtlarla ilişkili bulunmuştur (19, 31).

Enterik patojenler, kommensal bakterilerle bir yarışa girerek bağırsakları kolonize etmeye çalışır (1). Dolayısıyla, daha stabil bir mikrobiyom enteropatojenlerin neden olduğu değişikliklere daha etkili şekilde direnebilir. Bazı mikrobiyota türleri ile aşıya-özgü IgG ve IgA düzeyleri arasında pozitif korelasyon göstermiştir. Örneğin, koruyucu yanıtlarda *Oscillospora* ile pozitif, *Streptococcus* ile negatif korelasyon bulunmuştur. Aşı rejimi (farklı aşı suşu kullanıldığından) ve aşılamadan önce farklı bağırsak bakteri toplulukları olması makaklarla yapılan çalışmalarda daha geniş karşılaştırmayı engellese de, bu bulgu belli mikrobiyom kompozisyonlarının antikor yanıtını etkileyebileceğini ortaya koymaktadır (1,3).

3. Mikrobiyota Tarafından Üretilen Metabolitlerin Aşı Etkinliği Üzerindeki Etkisi

Mikrobiyomun aşı immün yanıtını etkileyebileceği bir potansiyel mekanizma da çeşitli hücre tiplerinde (makrofajlar, dendritik hücreler ve B hücreleri gibi) immünomodülatuar etki yapan mikrobiyal metabolit düzeylerinde değişiklik yaratmasıdır (37). Sindirilmemiş diyet lifi kolonda bakteriyel fermentasyon için önemli bir substrattır ve bu işlemin esas metabolik son ürünleri asetik, bütirik ve propiyonik asit gibi kısa zincirli yağ asitleridir (SCFA) (38). SCFA'ların B hücre gen ekspresyonunu ve enerji metabolizmasını düzenleyerek optimal antikor yanıtlarını

desteklediği gösterilmiştir (39). Diyet lifinden zengin beslenen veya içme sularına propiyonat eklenen farelerin ince ve kalın bağırsak mezenterik lenf nodları ile dalaklarında IgA düzeyinde ve B hücre sayılarında belirgin artış saptanmıştır. Ayrıca salgısal IgA ve serum IgG düzeyleri artış görülmüştür. Antibiyotik tedavisi ile diyet lifinin antikor yanıtları üzerindeki olumlu etkisi kaybolmuştur (40).

4. Antibiyotiklerin Mikrobiyota ve Aşı Etkinliği Üzerine Etkisi

Antibiyotiklerin aşı yanıtlarını değiştirebileceği düşünülmektedir. Oh ve ark.'nın (41) farelerde yaptığı bir deney intestinal mikrobiyomun ürettiği flagellinin Toll-like reseptör (TLR) aracılı uyarının influenza aşısını takiben antikor oluşması için gerekli olduğu gösterilmiştir. TLR-5 eksikliği olan, GF ve antibiyotikle tedavi edilen farelerde influenza aşı yanıtlarının bozulduğu gösterilmiştir. GF veya antibiyotik tedavisi verilen farelerin intestinal mikrobiyomu flagellin taşıyan *E. Coli* ile onarıldığında antikor yanıtlarının da düzeldiği gösterilmiştir. Ancak antibiyotik tedavisinin tetanoz-difteri-boğmaca veya sarhumma aşısına antikor yanıtlarını etkilememiştir çünkü bu yanıtın mikrobiyota-kökenli TLR5 sinyallerine bağlı olmadığı gösterilmiştir (41).

Woo ve ark. (42) klaritromisin ve doksosiklinin farelerde T-hücreye bağımlı ve T-hücreye bağımsız aşı antijenlerine (tetanoz toksoid, hepatit B, pnömokok polisakkarit aşıları) karşı gelişen antikor yanıtını baskıladığı, fakat ampisilin aynı etkiyi göstermediği bildirmişlerdir. Aynı çalışmada, bu üç antibiyotik canlı zayıflatılmış mukozal bakteriyel aşı (*Salmonella typhi* (Ty21a)) etkinliğini artırdığı saptanmıştır. Lamousé-Smith ve ark. (43) antibiyotik kokteyli (ampisillin, streptomisin ve klindamisin) verilmiş dişi farelerden doğan yavrularda subkutan ovalbumin aşılanması sonrasında IgG yanıtlarında bozulma olduğunu göstermiştir (kontrollerde 540 ng/ml, antibiyotik alanlarda 400 ng/ml). Bu bozukluk sadece antibiyotik verilen annelerden doğan yavrular 7 günlükken aşılandıklarında saptanırken, erişkin fareler ve 14 günlükken aşılanan farelerde bozulmuş yanıtlar gözlenmemiştir. Farelerde bağırsak mikrobiyal flora çeşitliliğinin ve sayısının da azaldığı görülmüştür. GF farelerde de ovalbumin aşılamasına bozulmuş yanıtlar varken, GF farelerin kontrol farelerden alınan gaita ile kolonizasyonundan sonra aşı yanıtının düzeldiği görülmüştür.

Aksine, oral olarak rotavirus aşısı uygulanan farelerde antibiyotik tedavisinin serum ve mukozada rotavirusa özgü antikor yanıtlarını artırdığı gösterilmiştir (44). Bu çalışmada GF farelerde de rotavirus antikor yanıtlarının arttığı gözlenmiştir. Bu veriler bağırsak mikrobiyotasının parenteral ve oral aşı yanıtlarını farklı etkileyebileceğini düşündürmektedir. Ancak bu konuda yorumlama yapmak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

5. Aşının Mikrobiyota Üzerine Etkisi

Biesbroek ve ark. (45) 2014'te randomize-kontrollü bir çalışmada 97 KPA-7 aşı ve 103 kontrol bebekte nazofaringeal mikrobiyotayı incelemişlerdir. KPA-7 aşılamasının nazofaringeal

mikrobiyal kompozisyonda geçici bir değişiklik ve bakteriyel çeşitlilikte artışla sonuçlandığını göstermişlerdir. Ayrıca aşılama pnömokok aşısı serotiplerinin miktarında azalma ile patobiyont streptokoklar ve anaerob bakterilerde göreceli artışa yol açmıştır. Yine aşı yapılanlarda patobiyont olan *Haemophilus* ve *Staphylococcus* bakterilerinin artışı kontrollerden daha fazla olmuştur (39).

Oral uygulanan rotavirus aşısı gibi bazı aşıların intestinal mikrobiyotayı etkileyebileceği öne sürülmüştür. Ancak, Garcia-Lopez ve ark.(46) 12-15 aylık bebeklerde, oral rotavirus aşılama öncesi ve sonrası bağırsak mikrobiyotalarını DNA sekanslama ile incelediklerinde önemli bir farklılık saptamamışlardır. Ang ve ark' da (47), metagenomik sekanslama yöntemi ile rotavirus aşısının bebek bağırsak mikrobiyotasını etkilemediği ve bebeklerin erken dönem bağırsak mikrobiyotalarında büyük bireysel farklılıklar bulunmasına karşın fonksiyonel düzeyde büyük benzerlikler olduğunu bildirmişlerdir (47).

Chen ve ark.(48) bebeklerin bağırsak mikrobiyota çeşitliliğinde rotavirus gastroenteritinde norovirus gastroenteritine göre belirgin şekilde azalma varken, norovirus gastroenteritinde normal kontrollere göre belirgin değişiklik olmadığını bildirmişlerdir. Eloe-Fadrosch ve ark. (20) sağlıklı yetişkinlere oral *Salmonella typhi* (Ty21a) aşısının intestinal mikrobiyota kompozisyonunu, çeşitliliğini veya stabilitesini bozmadığını bildirmişlerdir. Ancak enterik enfeksiyonlara neden olan diğer patojenlerin ve bunların oral uygulanan aşılarının mikrobiyotaya etkileri henüz bilinmemektedir.

6. Anne Sütü- Aşı Etkinliği

Anne sütünün bebeklerin bağırsak mikrobiyotasına etkileri konusunda birçok çalışma yapılmıştır. Anne sütü alan bebeklerin bağırsak mikrobiyotasında *B. Longum* alt tür *infantis*'in daha fazla bulunduğu gösterilmiş ve hem oral hem de parenteral aşılarla karşı artmış hümmoral ve hüccesel yanıtlarla ilişkili olduğu belirlenmiştir (49,50). Bununla ilişkili olarak anne sütü alan bebeklerin oral ve parenteral aşılar sonrasında serum tükrük ve gaitalarında aşya- özgü IgA ve IgG düzeylerinin anlamlı şekilde daha yüksek olduğu gözlenmiştir (51, 52).

Anne sütü almayan bebeklerde bağırsak mikrobiyotasındaki *Lactobacillus*, *Streptococcus* ve *Bifidobacterium* gibi probiyotik bakterilerde anlamlı azalma, patobiyont olan *Bacteroides* türleri ve Enterobakterilerinde (*Klebsiella* ve *E. Coli* gibi) ise artış gösterilmiştir (53, 54). Mikrobiyota-immün sistem ilişkisi göz önüne alındığında anne sütünün aşısı etkinliği üzerine etkisinin olması beklenebilir.

Yapılan çalışmalarda Rotavirus aşısı uygulanmış anne sütü alan bebeklerin almayanlara göre serokonversiyon oranının daha düşük olduğu bulunmuştur (55-59). Bununla birlikte, birden fazla rotavirus aşısı dozunun uygulanmasıyla anne sütü etkileniminin önüne geçilebileceği de anlaşılmıştır (46). Rotavirusa özgü antikorlar veya nötralizan faktörlerin yüksek titrede olduğu

anne sütünün aşısı virusunu nötraliz edebildiği gösterilmiştir (60). Ancak bu etkileşim yalnızca gelişmemiş veya gelişmekte olan toplumlarda yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (32,56-58). Literatürde gelişmiş toplumlarda yapılan çalışmalarda anlamlı düzeyde böyle bir etki gösterilmemiştir (59, 60). Groome ve ark. (61) rotavirus aşısı dozu öncesinde emzirmeye en az bir saat ara verilmesinin bebeklerdeki aşısı serokonversiyonunda veya anti-rotavirus IgA antikor titrelerinde anlamlı bir etkisi olmadığını göstermiştir.

Oral polio aşısına karşı immün yanıtlar da gelişmekte olan ülkelerde gelişmiş ülkelere göre daha düşük bulunmuştur. Anne sütünün bu durumuna etkisinin araştırıldığı John ve ark.'nın (62) yaptığı bir çalışmada, her OPV dozundan önce ve sonra 6 saate kadar emzirmeye ara verilen ve bir kısmı mamayla beslenen bebeklerde OPV aşısı yanıtları (antikorları) açısından anlamlı fark bulunmamıştır.

7. Probiyotik Desteğinin Aşı Etkinliği Üzerine Etkisi

Probiyotiklerin hem in vitro sistemlerde hem de hayvan modellerinde immün modülatör etkileri bilinmektedir (1,3). Bu nedenle probiyotik, prebiyotik veya sinbiyotiklerin immün sistemi uyarak aşısı etkinliğini (adjuvan etki) etkileyebileceği öngörülmektedir. İnsanlarda probiyotiklerin aşısı yanıtlarına etkileri konusunda yayınlanan bazı çalışmalar Tablo 1'de özetlenmiştir (2). Bu çalışmalardan bazıları aşya-özgü antikorlarda anlamlı artışlar bildirirse de, çoğunluğu probiyotiklerin aşılarla karşı antikor yanıtlarının artmasında orta dereceli etkili olduğu veya hiç etkili olmadığını göstermiştir (63-69). Ayrıca, bu çalışmaların sonuçları probiyotiklerin suşu ve dozu, aşısının tipi ve çalışılan topluma göre değişmektedir (Tablo 1).

Birçok çalışma probiyotiklerin uygulanmasının ardından serum antikorlarının arttığını göstermekle birlikte, bu yanıtlar plasebo kontrollerdeki yanıtlardan anlamlı olarak daha yüksek bulunmamıştır (37,41). Bununla birlikte, bazı probiyotik formülasyonları bir aşısı için özgül etkiler göstermekle birlikte diğer aşılarla etkisiz olmuştur (30,40).

Finlandiya'da Kukkonen ve ark.(66) çift-kör randomize kontrollü bir çalışmada, annelere gebeliğin son ayında dört probiyotik içeren bir karışım ya da plasebo uygulamışlardır. Doğumdan sonra bebeklere de aynı probiyotik karışımı ve 0.8 gr galakto-oligosakkaritler içeren bir şurup ya da plasebo 6 ay boyunca günde bir kez verilmiştir. Bebeklere 3., 4. ve 5. aylarda DTB ve 4. ayda *Haemophilus influenzae* tip b (Hib) aşısı uygulanmıştır. Altıncı ayda probiyotik alan grupta plasebo grubuna göre daha yüksek serum Hib IgG düzeyi tespit edilirken difteri ve tetanoz IgG düzeylerinde herhangi bir fark gözlenmemiştir. Bu durum probiyotiklerin etkilerinin çok özgül olduğunu da ortaya koymaktadır.

Davidson ve ark.'nın (63) çalışmasında sağlıklı yetişkinlere üç valanlı canlı zayıflatılmış influenza aşısı (2007-2008 suşu) yapıldıktan sonra 28 gün boyunca günde iki kez *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) veya plasebo verilmiştir. Probiyotik

Tablo I: Probiyotik desteğinin aşıların immünojenitesi ve etkinliği üzerine etkisiyle ilgili güncel çalışmaların özeti (1).

Çalışma popülasyonu (Yaş grubu, analiz edilen/ randomize edilen sayı)	Probiyotik/plasebo, Doz, Verilme Süresi	Aşı Şeması	Sonuçlar	Referans
Yenidoğanlara probiyotik verilen çalışmalar				
Yenidoğanlar, 20/30	<i>B. breve</i> C50, Doz belirtilmemiş <i>S. thermophilus</i> , Doz belirtilmemiş, 4 ay (doğumdan itibaren)	Parenteral: DTB-IPV-Hib 2,3,4. ay	4. ayda gaitada daha yüksek polio IgA düzeyleri ($p < 0.020$)	Mullie (35), Fransa, 2004
Yenidoğanlar, Anneleri, (gebeliğin son ayında) 87/145	<i>L. rhamnosus</i> GG (ATCC 52103), 5×10^9 cfu <i>L. rhamnosus</i> GG (LG705), 5×10^9 cfu <i>Bifidobacterium breve</i> (Bbi99), 2×10^8 cfu <i>Propionibacterium freudenreichii</i> spp. Shermanii JS (n=47), 2×10^9 cfu Plasebo: mikrokristalin selüloz, bebeklere galakto-oligosakkaritsiz şeker şurubu almış (n=40). 6 ay (doğumdan itibaren)	Parenteral: DTB 3,4,5.ay Hib 4.ay	Gebelere gebeliğin son ayında probiyotik karışımı veya plasebo; doğumdan sonra bebeklere aynı probiyotik karışımı veya plasebo verilmiş. 6.ayda bebeklerde serum Hib IgG için daha yüksek serokonversiyon oranları (%50/ %21, $p = 0.020$) 6.ayda daha yüksek Hib IgG eğilimi ($p = 0.064$) 6. ayda gruplar arasında difteri ve tetanoz'a özgül IgG düzeyleri açısından fark yok	Kukkonen ve ark.(66), Finlandiya, 2006
Yenidoğanlar 202/253	<i>Bifidobacterium longum</i> (ATCC BAA-999), 1×10^7 cfu <i>Lactobacillus rhamnosus</i> LPR , 2×10^7 cfu A şeması için probiyotikler (n = 29) veya (n = 28) plasebo. B şeması için probiyotik (n = 77) ve (n = 68) plasebo. 6 ay (doğumdan itibaren)	Parenteral: A şeması: Monovalan HepB 0, 1.ay DTaB-IPV-Hib-HepB heksavalan 6.ay B şeması: Monovalan HepB, 0,1 ve 6. ay	A şeması: 12. ayda serum HBV IgG'de artış eğilimi ($p = 0.069$) B şeması: 12. ayda serum HBV IgG'de fark yok ($p = 0.996$) A ve B: 12. ayda HBV IgG'de serokonversiyon oranlarında fark yok ($p = 0.259$)	Soh ve ark (70),
Yenidoğanlar, 264/300	<i>Bifidobacterium longum</i> BB536, 1×10^7 cfu/g formula 12 ay	DTB (şema belirtilmemiş) Polio (şema belirtilmemiş) HBV (şema belirtilmemiş)	7. ayda difteri, tetanoz, boğmaca, polio, HBV IgG düzeylerinde fark yok ($p = 0.466, 0.880, 0.209, 0.423, 0.665$) 11. ayda difteri, tetanoz, boğmaca, HBV IgG düzeylerinde fark yok ($p = 0.570, 0.934, 0.279, 0.307$)	Wu ve ark. (71),
Yenidoğan sonrası dönemdeki çocuklara probiyotik verilen çalışmalar				
2-5 aylık bebekler, 57/60	<i>L. casei</i> GG, 1×10^{11} cfu 6 gün (aşılama gününden itibaren)	Oral Rotavirus aşısı, 1. gün	Aşılamadan 8 gün sonra daha fazla sayıda rotavirus IgM salgılayan hücreler ($p = 0.020$) Aşılamadan 8 gün sonra daha yüksek rotavirus IgA serokonversiyon oranları (%93/%74, $p = 0.050$) Aşılamadan 8 gün sonra daha yüksek rotavirus IgM serokonversiyon oranları (%96/%85, $p = 0.150$)	Isolauri ve ark (72),
4 aylık bebekler 171/180	<i>L. paracasei</i> spp. <i>paracasei</i> F19, 1×10^9 - 10^{10} cfu 9 ay (4.aydan itibaren)	DTaB-IPV-Hib 3,5,5,12. ay	Aşılamadan 6.5 ve 12 ay sonra daha yüksek difteri IgG düzeyleri ($p = 0.044, 0.072$); tetanoz ya da Hib polisakkarit IgG düzeylerinde fark yok (p tanımlanmamış)	West ve ark. (68),

9 ay-10 yaş çocuklar, 140/162	<i>L. casei</i> CRL 431, 9.5 x10 ⁷ cfu <i>L.acidophilus</i> CRL 730, 9.5 x10 ⁷ cfu <i>S. thermophilus</i> , 9.5 x10 ⁹ cfu > 4 ay (zaman tanımlanmamış)	DTaB-Hib 18.ay PPV23 18. ay	Aşılamadan 4 hafta sonra serum total IgA, IgE, IgG, IgM, tetanoz IgG, Pnömonokok Ig G düzeylerinde fark yok (p=0.085, 0.964, 0.599, 0.082, 0.913, 0.671)	Perez ve ark. (73),
2-5 yaş çocuklar, 126/128	<i>Bifidobacterium breve</i> (BBG-01) (n = 64) , 4 x 10 ⁹ cfu Plasebo: mısır nişastası ve hidroksisellüloz (n = 62) 1 ay (aşılamadan 3 hafta önce başlayarak)	Oral: Kolera aşısı (Dukoral) çalışmanın 21. ve 35. günlerinde	Aşılamadan 6 hafta sonra plasebo grubunda daha yüksek serum Kolera Toksin B-özgül IgA (p=0.016). Probiyotik grubunda daha yüksek serum LPS-özgül IgA ve fekal CTB-özgül IgA.	Matsuda ve ark.(67),
8-10 aylık bebekler, 47/56	<i>Lactobacillus acidophilus</i> (ATCC 4356), 3 x 10 ⁹ cfu, <i>Bifidobacterium bifidum</i> , (DSMZ 20082), 3 x 10 ⁹ cfu, <i>Bifidobacterium longum</i> (ATCC 157078), 3 x 10 ⁹ cfu <i>Bifidobacterium infantis</i> (ATCC 15697), 3 x 10 ⁹ cfu (n = 25). Plasebo: mısır unu (n = 22) 5 ay (aşılamadan 2 ay önce başlayarak)	Parenteral: KKKV aşısı 3, 4 ve 5. Ay	Bebeklere probiyotik karışımı veya plasebo 5 ay süreyle verilmiş. Aşılamadan sonraki 3. ayda daha yüksek total IgG düzeyleri (592/%83, p=0.052) 3. ayda iki grup arasında özgül Ig G yanıtları arasında fark yok	Youngster ve ark. (69),
Gebelikte probiyotik uygulaması				
Gebe kadınlar, 61/61	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG (ATCC 52103), 1.8 x 10 ¹⁰ cfu (n=31). Plasebo grubuna maltodekstrin verilmiştir. Gebeliğin ≥36.haftasından doğuma kadar	Parenteral: DTaB-Hib, KPA 7 (şema belirsiz)	12. ayda anneleri probiyotik alan bebekler grubunda serum tetanoz, Hib ve KPA7 IgG düzeylerinde azalma Total IgG açısından fark yok	Licciardi ve ark.(74),
20-50 yaş, Erişkinler, 29/30	Grup 1: LGG (n = 21), 4 x 10 ¹⁰ cfu Grup 2: <i>Lactobacillus lactis</i> (n = 10), 3.4 x 10 ¹⁰ cfu Grup 3: Plasebo (n = 9) 1 hafta (aşılama gününden itibaren)	Oral: zayıflatılmış <i>Salmonella Typhi</i> Ty21a (Vivotif) 1, 3, ve 5. günlerde	Aşılamadan 1 hafta sonra grup 2'de kandaki nötrofillerde daha fazla CR3 reseptör ekspresyonu Gruplar arasında <i>Salmonella</i> - specific IgA, IgG, veya IgM açısından fark yok	Fang ve ark. (75),
20-30 yaş, Erişkinler, 64/66	Grup 1: LGG (ATCC 53103), (n = 21), 1 x10 ¹⁰ cfu Grup 2: <i>Lactobacillus paracasei</i> (CRL431), (n = 21), 1x 10 ¹⁰ cfu Grup 3: plasebo (n = 22) 5 hafta (aşılamadan 1 hafta önce başlayarak)	Oral: OPV [canlı zayıflatılmış poliomyelit virüsün tip 1 (LSc1), tip 2 (P2712), tip 3 (12a1b)]. 8. günde	Aşılamadan 2-4 hafta sonra poliovirus nötralizan Ig düzeylerinde artış (p=0.014-0.048); poliovirus IgA ve IgM düzeylerinde artış; poliovirus IgG düzeylerinde fark yok.	De Vrese ve ark.(76),
≥ 70 yaş, Erişkinler, 50/60	<i>L. paracasei</i> NCC 2461, 1x10 ⁹ cfu 6 ay (aşılamadan 4 ay önce başlayarak)	Parenteral: TIV(Trivalan İnfluenza aşısı) PPV23(polisakkarit pnömonokok aşısı)	Aşılamadan 2 ay sonra influenza A, influenza B ve pnömonokokal IgG düzeylerinde fark yok.	Bunout ve ark. (77),
22-56 yaş, Erişkinler, 50/50	<i>L. fermentum</i> CECT5716, 1 x 10 ¹⁰ cfu 4 hafta (aşılamadan 2 hafta önce başlayarak)	TIV (2004-2005) 14.günde	Aşılamadan 4 hafta sonra influenza IgA düzeylerinde artış (p<0.050); daha yüksek total IgG ve IgM (p<0.050); Aşılamadan 2 ve 4 hafta sonra daha yüksek TNF-α düzeyleri; total IgA ve influenza IgG ve IgM düzeylerinde fark yok.	Olivares ve ark. (78),

18-62 yaş, Erişkinler, 83/83	Grup1: <i>Bifidobacterium lactis</i> (b1-07), 2 x 10 ¹⁰ cfu Grup2: <i>Bifidobacterium lactis</i> (b1-04), 2 x 10 ¹⁰ cfu Grup 3: <i>Lactobacillus acidophilus</i> (La-14), 2 x 10 ¹⁰ cfu Grup 4: <i>Lactobacillus acidophilus</i> (NCFM), 2 x 10 ¹⁰ cfu Grup 5: <i>Lactobacillus plantarum</i> (Lp-115), 2 x 10 ¹⁰ cfu Grup 6: <i>Lactobacillus paracasei</i> (Lpc-37), 2 x 10 ¹⁰ cfu Grup 7: <i>Lactobacillus salivarius</i> (Ls33), 2 x 10 ¹⁰ cfu Her grup için aynı dozda günde 2 kez (n = 9). Plasebo (maltodekstrin), (n = 20) 3 hafta (aşılamaadan 1 hafta önce başlayarak)	Oral: Kolera aşısı (Dukoral) 7 ve 14.günlerde	Aşılamaadan 1 hafta sonra grup 2 ve grup 3 probiyotik alanlarda daha yüksek serum kolera IgG. Aşılamaadan 2 hafta sonra grup 4'te daha yüksek serum IgA ve IgM. Aşılamaadan 1-2 hafta sonra toplam aşı titrelerinde kolera Ig A ve IgM titrelerinde fark yok. Aşılamaadan 3-4 hafta sonra (geç yanıt) plaseboya göre probiyotik gruplarında antikor değişikliği yok Tükürük IgA'da anlamlı değişiklik saptanmamış.	Paineau ve ark. (64),
≥ 70 yaş, Erişkinler, 86/136	<i>L. casei</i> DN-114 001, 2 x 10 ¹⁰ cfu <i>L.bulgaricus</i> , 2 x 10 ¹⁰ cfu <i>S.thermophilus</i> , 2 x 10 ¹⁰ cfu 7 hafta (aşılamaadan 4 hafta önce başlayarak)	Parenteral: TIV (2004/2005): A/New Caledonia/20/99 (H1N1), A / Wyoming /3/2003 (H3N2), B/ Shangai /361/2002	Aşılamaadan 21 gün sonra tüm suşlara karşı daha yüksek Ig G düzeyleri	Boge ve ark. (79),
≥ 70 yaş, Erişkinler, 221/241	<i>L. casei</i> DN-114 001, 2 x 10 ¹⁰ cfu <i>L.bulgaricus</i> , 2 x 10 ¹⁰ cfu <i>S.thermophilus</i> , 2 x 10 ¹⁰ cfu 13 hafta (aşılamaadan 4 hafta önce)	TIV (2006/2007)	Aşılamaadan 3, 6, 9 hafta sonra daha yüksek B suşu Ig G düzeyleri; aşılamaadan 6,9 hafta sonra B suşuna karşı IgG için daha yüksek serokonversiyon oranları	Boge ve ark. (79),
≥ 65 yaş, Erişkinler, 27/27	<i>B.longum</i> (BB536), 1 x 10 ¹¹ cfu 20 hafta (aşılamaadan 3 hafta önce başlayarak)	Parenteral: TIV (2004/2005)	Aşılamaadan 17 hafta sonra tüm suşlara karşı IgG için serokonversiyon oranlarında; NK-hücre, nötrofil bakterisidal ve fagositik aktivitesinde fark yok	Namba ve ark. (80), Japonya, 2010
18-49 yaş, Erişkinler, 39/42	LGG ve 295 mg (n = 21), 1 x 10 ¹⁰ cfu Plasebo (n = 21), 4 hafta (aşılama gününden itibaren)	Nazal: LAIV (2007-2008): H1N1-benzeri, H3N2-benzeri ve B-benzeri suş antijenleri	Aşılamaadan 4 hafta sonra probiyotik grubunda H3N2 suşu için serum hemaglutinin titrelerinde anlamlı artış. 4 hafta ve 56 gün sonra tüm suşlara karşı serum IgG serokonversiyon oranlarında fark yok	Davidson ve ark.(63), Amerika, 2011
19-60 yaş, Erişkinler, 211/221	Grup 1: <i>Bifidobacterium animalis ssp</i> (BB12), 1 x10 ⁹ cfu Grup 2: Plasebo, (n = 48), 1 x10 ⁹ cfu Grup 3: <i>Lactobacillus paracasei ssp</i> (431) (n = 56), 1 x10 ⁹ cfu Grup 4: plasebo (n = 54), 1 x10 ⁹ cfu 6 hafta (aşılamaadan 2 hafta önce başlayarak)	Parenteral: TIV (2007-2008): H1N1-benzeri suş, H3N1-benzeri ve B-benzeri suş.	Aşılamaadan 4 hafta sonra probiyotik grupları 1 ve 2'de anlamlı derecede daha yüksek serum influenza IgG (IgG1 ve IgG3) ve salgısal influenza IgA. Tükürükte Salgısal influenza IgM ve IgG, serum total IgA ve IgM'de anlamlı fark yok.	Rizzardini ve ark. (65), İtalya, 2012

65-85 yaş, Erişkinler, 40/60	Grup 1: <i>Lactobacillus plantarum</i> (CECT 7315/16) (n = 19), 5 x 10 ⁹ cfu Grup2: <i>Lactobacillus plantarum</i> Parenteral: TIV (2006- (CECT 7315/16), (n = 14), 5x10 ⁸ cfu Grup 3: plasebo (n = 15) 3ay (aşılamadan 3-4 ay sonra başlayarak)	Parenteral: TIV (H1N1, H3N2, ve B suşu	Aşılamadan 6 ay sonra grup 1: daha yüksek influenza IgG. Grup 2: daha yüksek influenza IgA; IgM'de artış trendi, ancak anlamlı fark yok.	Bosch ve ark. (81), İspanya, 2012
75.6± 6.7 yaş, Erişkinler, 15/15	<i>Lactobacillus paracasei</i> (MoLac-1), ısıyla-öldürülmüş (n = 8), 1 x 10 ¹⁰ cfu Plasebo (n = 7) 3 ay (aşılamadan 3 hafta önce başlayarak)	Parenteral: TIV (H1N1, H3N2, ve B)	Aşılamadan 3-9 hafta sonra kanda "Doğal" immün yanıtlarda yani NK hücre, nötrofil bakterisidal ve fagositik aktivite, IgA, IgM ve IgG düzeyleri, IgG serokonversiyon oranları açısından anlamlı fark yok. Probiyotik grubunda daha yüksek aşı antikorları yanıtlarına doğru bir eğilim var	Akatsu ve ark. (82), Japonya, 2013
18-60 yaş, Erişkinler, 1066/1104	<i>L. paracasei</i> 431, ≥ 1 x 10 ⁹ cfu 6 hafta (aşılamadan 3 hafta önce)	TIV (2011-2012) A/California/7/2009-benzeri A/Perth/16/2009-benzeri B/Brisbane/60/2008-benzeri	Aşılamadan 3 hafta sonra her üç antijene karşı serum IgG düzeyleri; tükürük IgA düzeyleri ve serokonversiyon oranlarında fark yok.	Jespersen ve ark. (83), Almanya, Danimarka, 2015
≥ 65 yaş, Erişkinler, 42/45	<i>L. paracasei</i> (MCC1849) (ısıyla öldürülmüş), 1 x 10 ¹³ cfu 6 hafta, aşılamadan 3 hafta önce	TIV A/California/7/2009 (H1N1), A/Texas/50/2012 (H3N2) B/Massachusetts/2/2012	Aşılamadan 6 hafta sonra her üç antijene karşı IgG düzeylerinde fark yok. Total IgA, IgG, IgM düzeyleri; NK-hücre, nötrofil bakterisidal ve fagositik aktivitelerinde fark yok.	Maruyama ve ark. (84), Japonya, 2016
20-45 yaş, Erişkinler, 123/138	<i>L. coryniformis</i> (CECT5711), 2.8 x 10 ⁹ cfu 2 hafta (aşılama öncesi)	HAV (Hepatit A aşısı)	Aşılamadan 4 hafta sonra HAV IgG ve HAV IgM düzeylerinde artış (p=0.017)	Redondo ve ark (85), İspanya, 2017

grubunda 28. günde H3N2 IgG düzeyleri kontrol grubuna göre daha yüksek iken H1N1 veya B suşlarına karşı gelişen IgG düzeylerinde fark gözlenmemiştir (63).

Hayvan modellerinin kullanıldığı yeni çalışmalar aşılama sırasında korunma sağlayan immün mekanizmaları ve probiyotiklerle müdahale sonucundaki değişimlere ışık tutmaktadır. Probiyotiklerin sadece bazı aşı tipleri için adjuvan olarak değil patojenle karşılaşma sonrasında doku homeostazına dönüşü kolaylaştırıcı olarak da yararlı olabileceğine dair kanıtlar mevcuttur. Chatta ve ark. (86) yeni doğmuş gnotobiotik domuzlarda *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) ve *Bifidobacterium lactis* Bb12 (Bb12) karışımının oral zayıflatılmış insan rotavirus aşısının T hücre yanıtına etkisini araştırmıştır. Probiyotik tedavisi ile serumda Th1 sitokinlerinde artış, Th2 sitokinlerinde azalma; bununla korele olarak da virulan rotavirusla karşılaşıldığında ishal şiddetinde azalma ve virus yayılımında azalma olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, probiyotik grubunda Treg hücrelerinin de artmış olması, hastalıktan korunmanın sadece Th1 yanıtı ile değil, bağırsak homeostazı için gerekli düzenleyici yanıtlarla da olduğunu ve inflamasyonu azalttığını göstermektedir.

LGG ve Bb12 kombinasyonu ve anne sütü kolostrumu verilen yeni doğmuş gnotobiotik domuzlarda oral insan rotavirus

aşısına B lenfosit yanıtlarının incelendiği aynı grubun benzer bir başka hayvan çalışmasında kolostrumun insan rotavirus aşısı yapılmış grupta bağırsaktaki probiyotik kolonizasyonunu etkilemediği ancak aşılanmamış grupta arttırdığı gözlenmiştir (87). Aşılanmış ve kolostrum alan gruplarda serum rotavirus IgA titrelerinin aşılanmış, kolostrum alamayan gruplara göre ilk iki aşı dozundan sonra erken dönemde daha düşük olduğu görülmüştür. Bu anneden gelen antikorların erken inhibitör etkisine bağlanabilir. Ancak üç aşı dozundan sonra aşılanmış, kolostrum ve probiyotik tedavisi alan grupta IgA titrelerinin ve intestinal antikor sentezleyen hücrelerin probiyotik almayanlara göre anlamlı şekilde arttığı ancak IgG titrelerinin etkilenmediği gözlenmiştir (67). Dolayısıyla probiyotikler kolostrum alan aşı grubundaki IgA rotavirus antikorları üzerine anneden geçen antikor baskılayıcı etkilerin bertaraf edilmesine yardım etmiştir. Ayrıca probiyotik kolonizasyonundan bağımsız olarak kolostrum alanlarda geç dönemde intestinal rotavirus IgA titreleri kolostrum almayanlara göre daha yüksek bulunmuştur, bu da kolostrumun yararlı etkisini ortaya koymuştur. Sonuç olarak, kolostrum içeriği doğumdan sonra bağırsakta oluşan ilk probiyotik kolonizasyonunu etkilemekte, sonrasında ikisi birlikte karmaşık yollarla yenidoğanda oral rotavirus aşısına karşı gelişen antikor yanıtlarını düzenlemektedir.

Yakın zamanda yayınlanan bir derlemede probiyotiklerin oral aşılarla karşı gelişen immün yanıt üzerine yararlı etkisi olduğu, dolayısıyla aşı etkinliğini ve koruyuculuk süresini arttırmak için göreceli olarak ucuz bir girişim olabileceği bulunmuştur (88).

8. Prebiyotik Desteğinin Aşı Etkinliği Üzerine Etkisi

Prebiyotiklerin aşı yanıtına etkisine yönelik az sayıda çalışma bulunmaktadır. Prebiyotiklerde olduğu gibi, metodolojideki farklılıklar, farklı prebiyotiklerin kullanılması, farklı kullanım zamanlaması gibi nedenlerle farklı sonuçlar bildirilmiştir. Bazı prebiyotiklerin hayvan modellerinde olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir. Benyacoub ve ark. (89) bir fruktooligosakkarit (FOS) olan inülin karışımının farelerde oral uygulanan zayıflatılmış *Salmonella* aşısının etkinliğini arttırdığını bulmuştur. Farelerin diyetine prebiyotik karışımı eklenmesinin LPS'e özgü IgA ve flajelline özgü IgG titrelerinde artışa neden olduğu gözlenmiştir. Fareler virulan *Salmonella* suşu ile enfekte edildiklerinde prebiyotik alanların %73'ünün, almayanlardan sadece %40'ünün iyileştiği belirlenmiştir.

Benzer şekilde, bir fare- influenza aşısı modelinde erken dönemde galakto- ve frukto-oligosakkarit (GOS ve FOS) içeren bir prebiyotik karışımı uygulamasının (aşılardan 14 gün önce başlayıp 8 gün sonrasına kadar) influenza aşısı yanıtını arttırdığı gözlenmiştir. Prebiyotik desteği daha geç zamanlarda başladığında anlamlı bir etki gözlenmemiştir. Bu nedenle, prebiyotik desteğinin zamanlamasının da aşılarda immün modülatör etkiyi arttırmada önemli olduğu görülmektedir (90).

İnsanlarda yapılan çalışmalarda prebiyotik kullanımının aşı etkinliğine etkisi gösterilememiştir. Prebiyotik kullanımının Batı Avrupa'daki 1 yaş altındaki bebeklerde Hib ve tetanoz aşısı; Peru'daki 6-12 aylık bebeklerde tek başına Hib aşısı ve Hollanda'daki prematüre bebeklerde difteri, tetanoz, boğmaca, polio ve Hib (DTaB-IPV-Hib) aşısına karşı geliştirilen immün yanıt üzerine herhangi anlamlı bir etkisi gösterilememiştir. Sonuç olarak, sosyo-ekonomik durum veya diyetten bağımsız olarak prebiyotiklerin insanlarda aşı etkinliği üzerinde herhangi bir etkisi bulunamamıştır (91-93).

İlerleyen yaşla birlikte influenza aşısına antikor yanıtının azaldığı bilinmektedir. Çift-kör, randomize kontrollü bir çalışmada ilerleyen yaşla birlikte influenza aşısına karşı azalan T ve B hücre yanıtlarında simbiyotik (*Bifidobacterium longum* bv. *Infantis* ve gluko-oligosakkarit) uygulamasının anlamlı bir etkisi olmadığı gösterilmiştir (94).

Probiyotik veya prebiyotikler uygulandıktan sonraki antibiyotik titrelerinin ölçüldüğü çalışmalar tutarsızlıklar göstermiştir. Bu tutarsızlıklar, uygulanan probiyotik/prebiyotiğin tipi ve dozu, çalışılan toplumun özellikleri (etnik yapı, yaş, sosyo-ekonomik durum vs.), müdahalelerin süresi, araştırılan aşının tipi (parenteral veya mukozal) veya farklı ülkelerde uygulanan aşı şemalarındaki diğer farklılıkları yansıtabilmektedir (2).

9. Probiyotikler Aşı Adjuvanı Olarak Kullanılabilir mi?

Gelişmekte olan bazı ülkeler halen yeterli aşı kapsayıcılık oranlarına ulaşamamakta ve her yıl bir milyondan fazla çocuk aşı

ile önlenebilir hastalıklardan kaybedilmektedir (95). Bu nedenle, daha az sayıda ve dozla daha güçlü koruyucu immün yanıtlar geliştirmeyi sağlayabilecek yeni aşı antijenleri ve adjuvanlarının geliştirilmesi gündemdedir. Bakteri kaynaklı bileşenler (örn. lipopolisakkarit, peptidoglikan, flagellin, bakteriyel DNA ve RNA) güçlü immün stimulan kapasiteleri olduğundan adjuvanlar için önemli bir kaynak oluşturlar.

Oh ve ark.(41) 2014'te mevsimsel influenza aşısı uygulanmış GF veya antibiyotik verilmiş farelerde aşıya karşı antikor yanıtının belirgin şekilde bozulduğunu bildirmiştir. Çalışmada bağırsaklardaki mikrobiyotadan kaynaklanan bakteriyel flagelline özgü bir hücre-yüzey reseptörü olan TLR5'in sinyal yolağının, adjuvansız subünit aşılar olan üç valanlı inaktif influenza aşısına (TIV) ve inaktif polio aşısına antikor yanıtının oluşmasında önemli bir aracı rolü oynadığı, antibiyotik kullanımı ile bağırsak mikrobiyotası bozulduğunda flagellinin eksikliği nedeniyle yeterli TIV ve inaktif polio aşısı antikor yanıtının oluşmadığı gösterilmiştir. Bu çalışmaya göre bağırsak mikrobiyotasındaki bakterilerden kaynaklanan flagellin TIV aşısına immün yanıtı artırarak doğal bir adjuvan görevi yapmaktadır (41). Bu sonuçlar mikrobiyotanın aşı immünitesinin özellikle de zayıf adjuvanlı veya adjuvansız subünit aşıların tetiklediği immünitenin kontrolünde önemli rol oynadığını göstermektedir. Benzer bir etki inaktif polio aşısı yapılan farelerde elde edilmiştir; ancak bu farelerde bazı adjuvanlı ve sarı humma dahil canlı aşı yanıtlarında bozukluk gözlenmemiştir (96). Bu çalışma erişkin farelerle yapıldığından yaşamın erken döneminde bebeklerde aşı yanıtlarına mikrobiyotanın etkinliğini göstermek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Flagellinin yanında mikrobiyotada doğan immün sistemin patern tanıyıcı reseptörleri (PRR) yoluyla sinyal veren bir dizi molekül de sentezlemektedir ve adjuvanlı aşı yanıtına neden olabilmektedir (97). Son zamanlarda, örneğin mikrobiyotanın başka bir PRR olan nükleotid-bağlayıcı oligomerizasyon domaini (Nod) 2 tarafından tanınmasının, intranasal olarak insan serum albumini (HSA) model antijeni ve kolera toksini ile aşılanmış farelerde kolera toksininin mukozal adjuvan etkisi için gerekli olduğu bulunmuştur (98). Kolera toksini HSA'ya karşı antijene özgü yanıt için gereklidir.

Mikrobiyotanın potent immünomodülatör molekül lipopolisakkarittir (LPS) (99). Mikrobiyotadaki farklı türler farklı tiplerde LPS üretirler ve bu farklı tiplerde LPS'lerin immünojenitesindeki farklılıkların insanlardaki otoimmüniteye ve yardımcı T hücre yanıtındaki farklılıklara katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Halen mikrobiyotada üretilen LPS'nin aşı antikor yanıtını etkileyip etkilemediği bilinmemektedir (100,101). Ancak bu mümkün görünmektedir çünkü farelerin TLR4 üzerinden sinyal oluşturan antijenler ve ligandlar içeren sentetik nanopartiküller ile aşılama belirgin şekilde arttığı ve daha persistan antijene- özgü antikor yanıtına yol açtığı belirlenmiştir (100). Mikrobiyotada üretilen LPS'nin immünomodülatör aktivitesi aşıların antibiyotiklerden sonra uygulanmasıyla özellikle ilgili olabilir. Antibiyotik maruziyeti

sonrasında sıklıkla *Enterobacteriaceae* ailesinin üyeleri gibi yüksek düzeylerde endotoksin (LPS) üreten belli bakteri türleri aşırı çoğalır (102). Örneğin, sadece *Enterobacteria* ile kolonize ve yüksek-yağlı diet ile beslenen GF fareler obesite ve insülin direnci geliştirmiştir ve yüksek serum endotoksin düzeyleriyle birlikte artmış inflamasyon mevcuttur (103). Serum endotoksin düzeyinin artması muhtemelen intestinal geçirgenliğin artmasıyla bağırsaktan mikrobiyal ürünlerin geçişine izin vermesine bağlıdır (104, 105). Mikrobiyal geçişin (translokasyon) kronik HIV enfeksiyonunda sistemik immün aktivasyona yol açtığı, graft-versus-host hastalığını kötüleştirdiği ve inflamatuvar bağırsak hastalığının sık görülen bir özelliği olduğu gösterilmiştir. B hücrelerinde TLR4 sinyalinin de belli bakterilerin sistemik enfeksiyonuna karşı koruma sağlayabilen dolaşan mikrobiyotaya- özgü IgG üretiminde çok önemli olduğu gösterilmiştir (106-109).

Hayvanlarda mukozal adjuvan olarak kullanılan, *Vibrio cholerae*'den elde edilen kolera toksininin adjuvan etkisini yerleşik mikrobiyotanın arttırdığı fare deneylerinde gösterilmiştir, ancak toksisite riski nedeniyle insan aşılarda denenmemiştir (109). Bakteriyel bileşenlerin mukozal immün yanıtı artırma potansiyeli göz önüne alındığında mukozal immün hücrelerde doğrudan etkisi olan, sağlıklı bağırsak mikroorganizmalarına etkileri gösterilmiş ve imünomodülatör ajan olarak kullanılan probiyotik bakterilerin de adjuvan özellikleri olabileceği öne sürülmüştür (64). Uygun bir adjuvanın özellikleri arasında belli immün hücre tiplerini hedefleyebilme, mukozal slgA yanıtını artırma ve kabul edilebilir bir güvenlik profili olması bulunmaktadır. Probiyotikler dendritik hücreleri, B ve T hücre topluluklarını, antikor ve sitokin yanıtını değiştirebilirler (64). Böylece, probiyotikler intestinal immün hücreler ve epitelyal hücrelerle doğrudan etkileşimle ve /veya intestinal mikrobiyotanın dolaylı yoldan modülasyonu ile immünolojik etkilere aracılık edebilirler (64). Probiyotiklerin uygulama kolaylığı ve klinik çalışmalarla gösterilmiş güvenliliği de adjuvan olabilme özelliğini destekler. Tablo 1'de gösterilen, probiyotiklerin hem mukozal (oral rotavirus, polio, tifo, kolera aşılıları) hem de parenteral (hepatit B, influenza, Hib, DTaB, DTB aşılıları) uygulanan aşılarda aşıya özgü immün yanıtını araştıran randomize kontrollü çalışmalar probiyotiklerin adjuvan olarak kullanımı açısından umut vaat etmektedir. Bu çalışmalar şimdiki aşılardan farklı olarak, aşılarda ve probiyotik adjuvanlarının birlikte uygulanmasının gerekli olmadığını; enfeksiyonlardan daha iyi korunmak için probiyotik adjuvanların da yardımıyla hem mukozal hem de sistemik immüniteyi birlikte uyarmanın önemli olabileceğini düşündürmektedir (64).

SONUÇ

Mikrobiyotanın immün sistemin gelişimindeki merkezi rolü göz önünde tutulduğunda, mikrobiyotanın aşı etkinliği üzerinde etkili olması olağan bir durumdur. Ancak şimdiki kadar az sayıda veri bulunmaktadır. Mikrobiyotaya topluluklarındaki belli türlerin rolünün ve aşı yanıtlarıyla ilişkilerinin detaylı analizleri gerekmektedir.

Sağlıklı mikrobiyotayı tanımlamadaki güçlükler belli bir aşının istenen etkilerini sağlamak için optimal bir mikrobiyomu tanımlamayı da güçleştirmektedir. Günümüzde geliştirilen yöntemler ile (örn. Topluluk sekanslama, metagenomik, metabolomik, bioinformatik) zaman içinde gerekli yanıtları bulmayı sağlayacaklardır. Gelecekte aşı uygulamalarından önce mikrobiyotaya kompozisyonunun incelenerek gerekirse değiştirilmiş veya belli bir mikrobiyotaya molekülünün eklenerek istenen aşı yanıtının sağlanması mümkün olabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Andre, FE, Booy R., Bock, HL, Clemens J, Datta SK, John TJ, et al. Vaccination greatly reduces disease, disability, death and inequity worldwide. Bull World Health Organ 2008;86: 140-6.
2. De Filippo C, Cavalieri D, Di Paola M, Ramazzotti M, Poullet JB, Massart S, et al. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. Proc Natl Acad Sci USA 2010;107:14691-6.
3. Jamieson, A. M. Influence of the microbiome on response to vaccination. Hum Vaccin Immunother 2015;11: 2329-31.
4. Nguyen QN, Himes, JE, Martinez DR, Permar SR. The impact of the gut microbiota on humoral immunity to pathogens and vaccination in early infancy. PLoS Patho 2016;12.
5. Bäckhed F, Roswall, J, Peng Y, Feng Q, Jia H, Kovatcheva-Datchary P, et al. Dynamics and stabilization of the human gut microbiome during the first year of life. Cell Host Microbe 2015;17:852.
6. Madan JC, Hoen AG, Lundgren, SN, Farzan SF, Cottingham KL, Morrison, et al. Association of cesarean delivery and formula supplementation with the intestinal microbiome of 6-week-old infants. JAMA Pediatr 2016;170: 212- 19.
7. Fouhy F, Ross RP, Fitzgerald GF, Stanton C, Cotter PD. Composition of the early intestinal microbiota: knowledge, knowledge gaps and the use of high-throughput sequencing to address these gaps. Gut Microbes 2012;3: 203- 20.
8. Vangay P, Ward T, Gerber J S, Knights D. Antibiotics, pediatric dysbiosis, and disease. Cell Host Microbe 2015; 17: 553- 64.
9. Doan T, Arzika AM, Ray KJ, Cotter SY, Kim J, Mailik R et al. Gut microbial diversity in antibiotic-naive children after systemic antibiotic exposure: a randomized controlled trial. Clin Infect Dis 2017;64: 1147- 53.
10. Azad MB, Konya T, Persaud RR, Guttman DS, Chari RS, Field CJ et al.; CHILD Study Investigators. Impact of maternal intrapartum antibiotics, method of birth and breastfeeding on gut microbiota during the first year of life: a prospective cohort study. BJOG 2015;123: 983- 93.
11. Kuppala VS, Meinen-Derr J, Morrow AL, Schibler KR. Prolonged initial empirical antibiotic treatment is associated with adverse outcomes in premature infants. J Pediatr 2011; 159: 720- 5.
12. Honda K, Littman DR. The microbiota in adaptive immune homeostasis and disease. Nature 2011; 535: 75- 84.
13. Schirmer M, Smeekens SP, Vlamakis H, Jaeger M, Oosting M, Franzosa EA et al. Linking the human gut microbiome to inflammatory cytokine production capacity. Cell 2016; 167: 1897.
14. Quigley EM. Basic Definitions and Concepts: Organization of the Gut Microbiome. Gastroenterol Clin North Am 2017; 46: 1- 8.
15. Hansen CH, Nielsen DS, Kverka M, Zakostelska Z, Klimesova K,

- Hudcovic T, et al. Patterns of early gut colonization shape future immune responses of the host. *PLoS One* 2012; 7: e34043.
16. Slack E, Hapfelmeier S, Stecher B, Velykoredko Y, Stoel M, Lawson MA, et al. Innate and adaptive immunity cooperate flexibly to maintain host-microbiota mutualism. *Science* 2009; 325: 617- 20.
 17. Couturier-Maillard A, Secher T, Rehman A, Normand S, De Arcangelis A, Haesler R, et al. NOD2-mediated dysbiosis predisposes mice to transmissible colitis and colorectal cancer. *J Clin Invest* 2013; 123: 700- 11.
 18. Macpherson AJ, Geuking MB, Slack E, Hapfelmeier S, McCoy KD. The habitat, double life, citizenship, and forgetfulness of IgA. *Immunol Rev* 2012; 245: 132- 46.
 19. Zimmermann P, Curtis N. The influence of the intestinal microbiome on vaccine responses. *Vaccine* 2018; 36: 4433- 9. Review.
 20. Eloë-Fadrosch EA, McArthur MA, Seekatz AM, Drabek EF, Rasko DA, Szein MB, et al. Impact of oral typhoid vaccination on the human gut microbiota and correlations with s. Typhi-specific immunological responses. *PLoS One* 2013; 8: e62026.
 21. Seekatz AM, Panda A, Rasko DA, Toapanta FR, Eloë-Fadrosch EA, Khan AQ, et al. Differential response of the cynomolgus macaque gut microbiota to Shigella infection. *PLoS One* 2013; 8: e64212.
 22. Hallander HO, Paniagua M, Espinoza F, Askelöf P, Corrales E, Ringman M, et al. Calibrated serological techniques demonstrate significant different serum response rates to an oral killed cholera vaccine between Swedish and Nicaraguan children. *Vaccine* 2002; 21: 138-45.
 23. Levine MM. Immunogenicity and efficacy of oral vaccines in developing countries: lessons from a live cholera vaccine. *BMC Biol* 2010; 8: 129.
 24. Jiang V, Jiang B, Tate J, Parashar UD, Patel MM. Performance of rotavirus vaccines in developed and developing countries. *Hum Vaccin* 2010; 6: 532- 42.
 25. Lopman BA, Pitzer VE, Sarkar R, Gladstone B, Patel M, Glasser J, et al. Understanding reduced rotavirus vaccine efficacy in low socio-economic settings. *PLoS One* 2012;7: e41720.
 26. Grassly NC, Jafari H, Bahl S, Durrani S, Wenger J, Sutter RW et al. Mucosal immunity after vaccination with monovalent and trivalent oral poliovirus vaccine in India. *J Infect Dis* 2009 1; 200: 794- 801.
 27. Korpe PS, Petri WA Jr. Environmental enteropathy: critical implications of a poorly understood condition. *Trends Mol Med* 2012;18: 328- 36.
 28. Ghoshal UC, Ghoshal U, Ayyagari A, Ranjan P, Krishnani N, Misra A, et al. Tropical sprue is associated with contamination of small bowel with aerobic bacteria and reversible prolongation of orocecal transit time. *J Gastroenterol Hepatol* 2003;18: 540-7.
 29. Reikie BA, Adams RC, Ruck CE, Ho K, Leligdowicz A, Pillay S, et al. Ontogeny of Toll-like receptor mediated cytokine responses of South African infants throughout the first year of life. *PLoS One* 2012;7: e44763.
 30. Humphrey JH. Child undernutrition, tropical enteropathy, toilets, and handwashing. *Lancet* 2009; 374: 1032-5.
 31. Moon SS, Groome MJ, Velasquez DE, Parashar UD, Jones S, Koen A, et al. Pre vaccination rotavirus serum IgG and IgA are associated with lower immunogenicity of live, oral human rotavirus vaccine in South African infants. *Clin Infect Dis* 2016; 62: 157- 65.
 32. Chilengi R, Simuyandi M, Beach L, Mwila K, Becker-Dreps S, Emperador DM, et al. Association of maternal immunity with rotavirus vaccine immunogenicity in Zambian infants. *PLoS One* 2016; 11: e0150100.
 33. Huda MN, Lewis Z, Kalanetra KM, Rashid M, Ahmad SM, Raqib R, et al. Stool microbiota and vaccine responses of infants. *Pediatrics* 2014;134: e362-72.
 34. Harris VC, Armah G, Fuentes S, Korpela KE, Parashar U, Victor JC, et al. The infant gut microbiome correlates significantly with rotavirus vaccine response in rural Ghana. *J Infect Dis* 2017; 215: 34- 41.
 35. Mullié C, Yazourh A, Thibault H, Odou MF, Singer E, Kalach N, et al. Increased poliovirus-specific intestinal antibody response coincides with promotion of *Bifidobacterium longum-infantis* and *Bifidobacterium breve* in infants: a randomized, double-blind, placebocontrolled trial. *Pediatr Res* 2004; 56: 791- 5.
 36. Nemes E, Lefler E, Szegedi L, Kapitány A, Kovács JB, Balogh M, et al. Gluten intake interferes with the humoral immune response to recombinant hepatitis B vaccine in patients with celiac disease. *Pediatrics* 2008; 121: e1570- 6.
 37. Dorrestein PC, Mazmanian SK, Knight R. Finding the missing links among metabolites, microbes, and the host. *Immunity* 2014; 40: 824- 32.
 38. Rooks MG, Garrett WS. Gut microbiota, metabolites and host immunity. *Nat. Rev. Immunol* 2016; 16: 341- 52.
 39. Kim M, Qie Y, Park J, Kim CH. Gut microbial metabolites fuel host antibody responses. *Cell Host Microbe* 2016; 20: 202- 14.
 40. Kim M, Kim CH. Regulation of humoral immunity by gut microbial products. *Gut Microbes* 2017; 8: 392- 9.
 41. Oh JZ, Ravindran R, Chassaing B, Carvalho FA, Maddur MS, Bower M, et al. TLR5-mediated sensing of gut microbiota is necessary for antibody responses to seasonal influenza vaccination. *Immunity* 2014; 41: 478- 92.
 42. Woo PC, Tsoi HW, Wong LP, Leung HC, Yuen KY. Antibiotics modulate vaccine-induced humoral immune response. *Clin Diagn Lab Immunol* 1999;6:832-7.
 43. Lamousé-Smith ES, Tzeng A, Starnbach MN. The intestinal flora is required to support antibody responses to systemic immunization in infant and germ free mice. *PLoS One* 2011;6: e27662.
 44. Uchiyama R, Chassaing B, Zhang B, Gewirtz AT. Antibiotic treatment suppresses rotavirus infection and enhances specific humoral immunity. *J Infect Dis* 2014; 210:171-82.
 45. Biesbroek G, Bosch AA, Wang X, Keijser BJ, Veenhoven RH, Sanders EA, et al. The impact of breastfeeding on nasopharyngeal microbial communities in infants. *Am J Respir Crit Care Med* 2014; 190: 298- 308.
 46. García-López R, Pérez-Brocal V, Diez-Domingo J, Moya A. Gut microbiota in children vaccinated with rotavirus vaccine. *Pediatr Infect Dis J* 2012; 31: 1300- 2.
 47. Ang L, Arbolea S, Lihua G, Chuihui Y, Nan Q, Suarez M, et al. The establishment of the infant intestinal microbiome is not affected by rotavirus vaccination. *Sci Rep* 2014; 4: 7417.
 48. Chen SY, Tsai CN, Lee YS, Lin CY, Huang KY, Chao HC, et al. Intestinal microbiome in children with severe and complicated acute viral gastroenteritis. *Sci Rep* 2017; 7: 46130.
 49. Biavati B et al. Species of the *Bifidobacterium* in the feces of infants. *Microbiologica* 1984; 7: 341- 5.
 50. Harmsen HJ, Wildeboer-Veloo AC, Raangs GC, Wagendorp AA, Klijn N, Bindels JG, et al. Analysis of intestinal flora development in breast-fed and formula-fed infants by using molecular identification and detection methods. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000; 30: 61- 7.
 51. Pabst HF, Spady DW. Effect of breast-feeding on antibody response to conjugate vaccine. *Lancet* 1990; 336: 269- 70.

52. Hahn-Zoric M, Fulconis F, Minoli I, Moro G, Carlsson B, Böttiger M, et al. Antibody responses to parenteral and oral vaccines are impaired by conventional and low protein formulas as compared to breastfeeding. *Acta Paediatr Scand* 1990; 79: 1137- 42.
53. Guaraldi F, Salvatori G. Effect of breast and formula feeding on gut microbiota shaping in newborns. *Front Cell Infect Microbiol* 2012;2:94.
54. Jost T, Lacroix C, Braegger CP, Chassard C. New insights in gut microbiota establishment in healthy breast fed neonates. *PLoS One* 2012; 7: e44595.
55. Glass RI, Ing DJ, Stoll BJ, Ing RT. Immune response to rotavirus vaccines among breast-fed and nonbreast-fed children. *Adv Exp Med Biol* 1991; 310: 249- 54.
56. Rennels MB. Influence of breast-feeding and oral poliovirus vaccine on the immunogenicity and efficacy of rotavirus vaccines. *J Infect Dis* 1996; 174 Suppl 1: S107-11.
57. Vesikari T, Prymula R, Schuster V, Tejedor JC, Cohen R, Bouckennooghe A, et al. Efficacy and immunogenicity of live-attenuated human rotavirus vaccine in breast-fed and formula-fed European infants. *Pediatr Infect Dis J* 2012; 31: 509- 13.
58. Brüßow H, Benitez O, Uribe F, Sidoti J, Rosa K, Cravioto A. Rotavirus-inhibitory activity in serial milk samples from Mexican women and rotavirus infections in their children during their first year of life. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 593- 7.
59. Rennels MB, Wasserman SS, Glass RI, Keane VA. US Rotavirus Vaccine Efficacy Group. Comparison of immunogenicity and efficacy of rhesus rotavirus reassortant vaccines in breastfed and nonbreastfed children. *Pediatrics* 1995; 96: 1132- 6.
60. Moon SS, Tate JE, Ray P, Dennehy PH, Archary D, Coutsooudis A, et al. Differential profiles and inhibitory effect on rotavirus vaccines of nonantibody components in breast milk from mothers in developing and developed countries. *Pediatr Infect Dis J* 2013; 32: 863- 70.
61. Groome MJ, Moon SS, Velasquez D, Jones S, Koen A, van Niekerk N, Jiang B, et al. Effect of breastfeeding on immunogenicity of oral live-attenuated human rotavirus vaccine: a randomized trial in HIV-uninfected infants in Soweto, South Africa. *Bull World Health Organ* 2014; 92: 238- 45.
62. John TJ, Devarajan LV, Luther L, Vijayarathnam P. Effect of breast-feeding on seroresponse of infants to oral poliovirus vaccination. *Pediatrics* 1976; 57: 47- 53.
63. Davidson LE, Fiorino AM, Snyderman DR, Hibberd PL. Lactobacillus GG as an immune adjuvant for live-attenuated influenza vaccine in healthy adults: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Eur J Clin Nutr* 2011; 65: 501-7.
64. Paineau D, Carcano D, Leyer G, Darquy S, Alyanakian MA, Simoneau G, et al. Effects of seven potential probiotic strains on specific immune responses in healthy adults: a double-blind, randomized, controlled trial. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2008; 53: 107- 13.
65. Rizzardini G, Eskesen D, Calder PC, Capetti A, Jespersen L, Clerici M. Evaluation of the immune benefits of two probiotic strains *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis*, BB-12® and *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*, L. casei 431® in an influenza vaccination model: a randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Br J Nutr* 2012; 107: 876- 84.
66. Kukkonen K, Nieminen T, Poussa T, Savilahti E, Kuitunen M. Effect of probiotics on vaccine antibody responses in infancy--a randomized placebo-controlled double-blind trial. *Pediatr Allergy Immunol* 2006; 17: 416- 21.
67. Matsuda F, Chowdhury MI, Saha A, Asahara T, Nomoto K, Tarique AA, et al. Evaluation of a probiotics, *Bifidobacterium breve* BBG-01, for enhancement of immunogenicity of an oral inactivated cholera vaccine and safety: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial in Bangladeshi children under 5 years of age. *Vaccine* 2011; 29: 1855-8.
68. West NP, Cripps AW. Are vaccination models suitable to determine whether probiotics have beneficial health effects in the general population? *Hum Vaccin Immunother* 2013; 9: 621- 4. Review.
69. Youngster I, Kozer E, Lazarovitch Z, Broide E, Goldman M. Probiotics and the immunological response to infant vaccinations: a prospective, placebo controlled pilot study. *Arch Dis Child* 2011; 96: 345- 9.
70. Soh SE, Ong DQ, Gerez I, Zhang X, Chollate P, Shek LP et al. Effect of probiotic supplementation in the first 6 months of life on specific antibody responses to infant Hepatitis B vaccination. *Vaccine* 2010; 28: 2577- 9.
71. Wu BB, Yang Y, Xu X, Wang WP. Effects of *Bifidobacterium* supplementation on intestinal microbiota composition and the immune response in healthy infants. *World J Pediatr* 2016; 12: 177- 82.
72. Isolauri E, Joensuu J, Suomalainen H, Luomala M, Vesikari T. Improved immunogenicity of oral D x RRV reassortant rotavirus vaccine by *Lactobacillus casei* GG. *Vaccine* 1995; 13: 310- 2.
73. Perez N, Iannicelli JC, Girard-Bosch C, Gonzalez S, Varea A, Disalvo L, et al. Effect of probiotic supplementation on immunoglobulins, isoagglutinins and antibody response in children of low socio-economic status. *Europ J Nutr* 2010; 49: 173- 9.
74. Licciardi PV, Tang ML. Vaccine adjuvant properties of probiotic bacteria. *Discov Med* 2011;12: 525- 33.
75. Fang H, Elina T, Heikki A, Seppo S. Modulation of humoral immune response through probiotic intake. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2000; 29: 47- 52.
76. de Vrese M, Rautenberg P, Laue C, Koopmans M, Herremans T, Schrezenmeir J. Probiotic bacteria stimulate virus-specific neutralizing antibodies following booster polio vaccination. *Europ J Nutr* 2005; 44: 406- 13.
77. Bunout D, Barrera G, Hirsch S, Gattas V, de la Maza MP, Haschke F, et al. Effects of a nutritional supplement on the immune response and cytokine production in free-living Chilean elderly. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2004; 28: 348-54.
78. Olivares M, Diaz-Ropero MP, Sierra S, Lara-Villoslada F, Fonolla J, Navas M, et al. Oral intake of *Lactobacillus fermentum* CECT5716 enhances the effects of influenza vaccination. *Nutrition* 2007; 23: 254- 60.
79. Boge T, Remigy M, Vaudaine S, Tanguy J, Bourdet-Sicard R, van der Werf S. A probiotic fermented dairy drink improves antibody response to influenza vaccination in the elderly in two randomised controlled trials. *Vaccine* 2009; 27: 5677- 84.
80. Namba K, Hatano M, Yaeshima T, Takase M, Suzuki K. Effects of *Bifidobacterium longum* BB536 administration on influenza infection, influenza vaccine antibody titer, and cell-mediated immunity in the elderly. *Biosci Biotechnol Biochem* 2010; 74: 939- 45.
81. Bosch M, Mendez M, Perez M, Farran A, Fuentes MC, Cune J. *Lactobacillus plantarum* CECT7315 and CECT7316 stimulate immunoglobulin production after influenza vaccination in elderly. *Nutr Hosp* 2012; 27: 504- 9.

82. Akatsu H, Arakawa K, Yamamoto T, Kanematsu T, Matsukawa N, Ohara H, et al. Lactobacillus in jelly enhances the effect of influenza vaccination in elderly individuals. *J Am Geriatr Soc* 2013; 61: 1828-30.
83. Jespersen L, Tarnow I, Eskesen D, Morberg CM, Michelsen B, Bugel S, et al. Effect of *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *L. casei* 431 on immune response to influenza vaccination and upper respiratory tract infections in healthy adult volunteers: a randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group study. *Am J Clin Nutr* 2015; 101: 1188-96.
84. Maruyama M, Abe R, Shimono T, Iwabuchi N, Abe F, Xiao JZ. The effects of non-viable *Lactobacillus* on immune function in the elderly: a randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Internat J Food Sci Nutr* 2016; 67: 67-73.
85. Redondo N, Nova E, Gheorghe A, Diaz LE, Hernandez A, Marcos A. Evaluation of *Lactobacillus coryniformis* CECT5711 strain as a coadjuvant in a vaccination process: a randomised clinical trial in healthy adults. *Nutrition and Metabolism* 2017; 14.
86. Chattha KS, Vlasova AN, Kandasamy S, Rajashekara G, Saif LJ. Divergent immunomodulating effects of probiotics on T cell responses to oral attenuated human rotavirus vaccine and virulent human rotavirus infection in a neonatal gnotobiotic piglet disease model. *J Immunol* 2013; 191: 2446-56.
87. Chattha KS, Vlasova AN, Kandasamy S, Esseili MA, Siegmund C, Rajashekara G, et al. Probiotics and colostrum/milk differentially affect neonatal humoral immune responses to oral rotavirus vaccine. *Vaccine* 2013; 31: 1916-23.
88. Zimmermann P, Curtis N. The influence of probiotics on vaccine responses – A systematic review. *Vaccine* 2018; 36: 207-213.
89. Benyacoub J, Rochat F, Saudan KY, Rochat I, Antille N, Cherbut C, et al. Feeding a diet containing a fructooligosaccharide mix can enhance *Salmonella* vaccine efficacy in mice. *J Nutr* 2008; 138: 123-9.
90. Vos AP, Knol J, Stahl B, M'rabet L, Garssen J. Specific prebiotic oligosaccharides modulate the early phase of a murine vaccination response. *Int Immunopharmacol* 2010; 10: 619-25.
91. Stam J, van Stuijvenberg M, Garssen J, Knipping K, Sauer PJ. A mixture of three prebiotics does not affect vaccine specific antibody responses in healthy term infants in the first year of life. *Vaccine* 2011; 29: 7766-72.
92. Duggan C, Penny ME, Hibberd P, Gil A, Huapaya A, Cooper A, et al. Oligofructose-supplemented infant cereal: 2 randomized, blinded, community-based trials in Peruvian infants. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 937-42.
93. van den Berg JP, Westerbeek EA, van der Klis FR, Berbers GA, Lafeber HN, van Elburg RM. Neutral and acidic oligosaccharides supplementation does not increase the vaccine antibody response in preterm infants in a randomized clinical trial. *PLoS One* 2013; 8: e70904.
94. Enani S, Przemska-Kosicka A, Childs CE, Maidens C, Dong H, Conterno L, et al. Impact of ageing and a synbiotic on the immune response to seasonal influenza vaccination; a randomised controlled trial. *Clin Nutr* 2018; 37: 443-451.
95. Pabst O, Hornef M. Gutmicrobiota: a natural adjuvant for vaccination. *Immunity* 2014; 41: 349-51.
96. Kasturi SP, Skountzou I, Albrecht RA, Koutsonanos D, Hua T, Nakaya HI, et al. Programming the magnitude and persistence of antibody responses with innate immunity. *Nature* 2011; 470, 543-7.
97. Kim D, Kim YG, Seo SU, Kim DJ, Kamada N, Prescott, D et al. Nod2-mediated recognition of the microbiota is critical for mucosal adjuvant activity of cholera toxin. *Nat Med* 2016; 22:524-30.
98. Chow JC, Young DW, Golenbock DT, Christ WJ, Gusovsky F. Toll-like receptor-4 mediates lipopolysaccharide-induced signal transduction. *J Biol Chem* 1999; 274:10689-92.
99. Vatanen T, Kostic AD, d'Hennezel E, Siljander H, Franzosa EA, Yassour M, et al. Variation in microbiome LPS immunogenicity contributes to autoimmunity in humans. *Cell* 2016;165:842-53.
100. Pulendran B, Kumar P, Cutler CW, Mohamadzadeh M, Van Dyke T, Banchereau J. Lipopolysaccharides from distinct pathogens induce different classes of immune responses in vivo. *J Immunol* 2001; 167: 5067-76.
101. Zeng MY, Inohara N, Nuñez G. Mechanisms of inflammation-driven bacterial dysbiosis in the gut. *Mucosal Immunol* 2017;10:18-26.
102. Fei N, Zhao L. An opportunistic pathogen isolated from the gut of an obese human causes obesity in germ-free mice. *ISME J* 2013;7:880-4.
103. Tulstrup MV, Christensen EG, Carvalho V, Linnings C, Ahrné S, Højberg O, et al. Antibiotic treatment affects intestinal permeability and gut microbial composition in Wistar rats dependent on antibiotic class. *PLoS One* 2015; 10: e0144854.
104. Brenchley JM, Douek DC. Microbial translocation across the GI tract. *Annu Rev Immunol* 2012; 30: 149-73.
105. Brenchley JM, Price DA, Schacker TW, Asher TE, Silvestri G, Rao S, et al. Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV infection. *Nat Med* 2006; 12:1365-71.
106. Cooke KR, Olkiewicz K, Erickson N, Ferrara JL. The role of endotoxin and the innate immune response in the pathophysiology of acute graft versus host disease. *J Endotoxin Res* 2002; 8: 441-8.
107. Caradonna L, Amati L, Magrone T, Pellegrino NM, Jirillo E, Caccavo D. Enteric bacteria, lipopolysaccharides and related cytokines in inflammatory bowel disease: biological and clinical significance. *J Endotoxin Res* 2000; 6: 205-14.
108. Zeng MY, Cisalpino D, Varadarajan S, Hellman J, Warren HS, Cascalho M, et al. Gut microbiota-induced immunoglobulin G controls systemic infection by symbiotic bacteria and pathogens. *Immunity* 2016;44: 647-58.
109. Kim YG. Microbiota Influences Vaccine and Mucosal Adjuvant Efficacy. *Immune Netw* 2017;17: 20-4.