مروری بر اثر پروبیوتیک‌ها بر عفونت‌های گوارشی ویروسی

1- محمدرضا قرآنی* 2- فرشته عاشق علی

1- استادیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز
2- دانشجوی دکتری تخصصی کنترل دارو و فرآورده های آرایشی و بهداشتی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

Email: (mo_gh66@yahoo.com)
Email: (f.asheghali@yahoo.com)

چکیده

امروزه شیوع عفونت‌های ویروسی به طور چشمگیری در سراسر جهان در حال افزایش است و درمان قطعی برای مقابله با آن ها وجود ندارد. ویروس‌ها شایعترین عامل مسبب درگیری در گاستروانتریت، به ویژه در نوزادان و کودکان هستند. علاوه بر این، داروهای ضد ویروسی کارامد، به دلیل جهش‌های ژنتیکی بسیاری از ویروس‌ها، انگشت شمار هستند. بیش از یک قرن پیش، دانشمندان، به طور اتفاقی، با استفاده از باکتری‌های اسید لاکتیک که به طور طبیعی در محصولات تخمیر شده موجود بودند، برای مبارزه با عفونت‌های ویروسی استفاده کردند. در حقیقت، پروبیوتیک‌های ضد ویروسی برای نخستین بار، هنگامی که به عنوان داروهایی برای محافظت از اپی‌تلیوم روده در برابر عفونت ویروسی و کمک به کاهش اسهال عمل کردند، پدیدار شدند. دانشمندان بررسی عملکرد اثر برخی از پروبیوتیک‌ها، نه تنها بر باکتری‌های بیماری‌زا، بلکه بر روی ویروس‌ها، از جمله ویروس‌های روده‌ای، را نیز آغاز کردند. این مطالعات بر روی انسان‌ها در کارآزمایی‌های بالینی و در مدل‌های حیوانی انجام شده‌اند. در این مقاله به صورت اختصاصی، به مرور تلاش‌های انجام شده محققان در ارتباط با اثر پروبیوتیک‌ها بر روی عفونت‌های گوارشی ویروسی پرداخته می شود. بدیهی است با توجه به جدید بودن مطالعات، هنوز نادانسته‌های ما پیرامون اثر پروبیوتیک‌ها بر ویروس‌ها از دانسته‌هایمان بیشتر است و پژوهش‌های بیشتری را در مورد این موضوع می‌طلبد.

کلمات کلیدی: نوروویروس، روتاویروس، تعدیل ایمنی، میکروبیوتای روده، ایمونوبیوتیک ها

مقدمه

گاستروانتریت ها و عفونت‌های تنفسی از مهمترین علل مرگ و میر در سراسر جهان هستند. با وجود اتخاذ گسترده راهبردهای واکسیناسیون، برخی از عوامل بیماری‌زا همچنان تهدیدی برای سلامت عمومی در سراسر جهان هستند. مؤسسه ملی بهداشت ایالات

متحده آمریکا (NIH) پیدایش 16 بیماری عفونی جدید را اعلام کرد، که شش مورد از آن‌ها به عنوان عفونت‌های بازپدید درنظرگرفته شدند (1). در ایالات متحده آمریکا، میزان مرگ و میر ناشی از بیماری های عفونی (ID1) در سال 2000 به 170 هزار مرگ رسیده بود (2). افزایش بیماران دارای نقص ایمنی نقش اساسی را در نوپدید یا بازپدید بودن IDها دارد. بنابراین، عوارض بعد از عفونت می‌توانند منجر به مرگ شوند. بهداشت عمومی در ریشه کن کردن IDها با دو مانع روبرو است: اول روش‌های درمان با آنتی بیوتیک، که برای چندین سال است که موجب نجات بیمار آلوده شده‌اند. متأسفانه، ظهور سریع باکتری‌های مقاوم در سراسر جهان رخ می‌دهد، و کارآیی آنتی بیوتیک‌ها، که دارو را دگرگون ساخته و جان میلیون‌ها نفر را نجات داده‌اند، را به خطر می‌اندازد. دوم عدم وجود عوامل ضد ویروسی موثر در برابر ویروس‌های عفونی، که منجر به سطح بالای درمان در میان افراد در حتی در حضور واکسن‌هایی که چند نوع ویروس را پوشش می‌دهند، می‌شود (3). چندین راهبرد برای غلبه بر این بحران ارائه شده است، به عنوان مثال، استفاده از باکتریوفاژها به عنوان عوامل ضد باکتریایی (4)، استخراج و خالص سازی پپتیدهای ضد میکروبی (5) و جلوگیری از IDها با استفاده از واکسن ها و استراتژی واکسن نوترکیب (6). به نظر می‌رسد پیش گیری از بروز بیماری های عفونی، روش مناسبی برای جلوگیری از عوارض ID است، زیرا همه روش های ذکر شده در بالا دارای محدودیت‌هایی مانند عوارض جانبی در میزبان هستند.

تقویت سیستم ایمنی مهمترین عامل کلیدی در پیشگیری از IDها است. تعادل رژیم غذایی در وعده‌های غذایی، تجویز مکمل‌هایی مانند فیبر و پروبیوتیک‌ها سه روش برای تقویت و تحریک سیستم ایمنی بدن هستند، بنابراین از مخاط در مقابل ورود عوامل بیماری‌زا محافظت می‌کنند. پروبیوتیک‌ها ظرفیت خود را برای تحریک و تعدیل سیستم ایمنی نشان داده‌اند (7). علاوه بر فعالیت ضد باکتریایی پروبیوتیک‌ها، برخی از سویه‌ها یک فعالیت ضد ویروسی مؤثر را نشان داده اند که می‌تواند راه حلی برای کمبود عوامل ضد ویروسی باشد (8).

1- دفع باکتری‌های مقیم توسط پروبیوتیک‌ها در اکوسیستم روده

AvPr با حذف کلنیزاسیون باکتری‌های گرم منفی در اکوسیستم روده می‌تواند نقش غیرمستقیمی را در جلوگیری و یا کاهش عفونت ویروسی به ویژه در برابر ویروس‌های روده‌ای ایفا کند. بنابراین، پروبیوتیک‌های پیش التهابی (که باعث واکنش پیش‌التهابی می‌شوند) در گاستروانتریت های ویروسی مورد استقبال قرار می‌گیرند زیرا می‌توانند ایمنی پیش التهابی را برای از بین بردن EnVها ایجاد کنند. سویه‌های پروبیوتیکی قادرند به خوبی به سلول‌های میزبان متصل شده و سپس یک ریز محیط‌زیستی را ایجاد کنند، که از تکثیر بسیاری از باکتری‌های مقیم و بیماریزا از جمله باکتری‌های گرم منفی جلوگیری نمایند. پروبیوتیک‌ها نسبت به باکتری‌های گرم منفی ظرفیت بیشتری برای چسبیدن به سلول‌های میزبان دارند (احتمالاً به دلیل آبگریزی بالاتر دیواره سلولی آنها)، که می‌توانند تعداد باکتری‌های گرم منفی را کاهش دهند. پروبیوتیک‌ها می‌توانند به روش‌های مختلفی عمل کنند: 1. تشکیل بیوفیلم: این بیوفیلم می‌تواند سلول‌های میزبان را در برابر سایر باکتری‌های مقیم محافظت کند، زیرا این بیوفیلم اکثر گیرنده‌های سلول میزبان را پوشش می‌دهد. 2. اثر ایمونومدولاتوری: پروبیوتیک‌ها می‌توانند پاسخ ایمنی ذاتی، به ویژه فاگوسیت‌ها را تحریک کنند. 3. ترشح پپتیدهای ضد میکروبی (AMPs): بتادیفنسین‌ها و کاتلسیدین‌ها که باکتری‌های مقیم را هدف قرار می‌دهند. با این حال، هیچ توضیحی در مورد مقاومت برخی از سویه‌های پروبیوتیکی در برابر این AMPها وجود ندارد. 4. تولید بیش از حد موکین: موکین از چسبندگی باکتری‌های مقیم

[1] Infectious Disease

جلوگیری می کند. 5. ظرفیت تجمع سویه‌های پروبیوتیک منجر به به دام افتادن میکروب‌های دیگر و همچنین باکتری‌های کامنسال یا گرم منفی می‌شود. 6. پروبیوتیک‌ها می‌توانند چندین آنزیم را برای رقابت با سایر باکتری‌های مقیم برای مواد مغذی موجود در اکوسیستم روده ترشح کنند. علاوه بر این، اکثر سویه‌های پروبیوتیک، دهیدروژناز آرژینین دارند که در این مکانیسم از اهمیت بالایی برخوردار است. 7. سویه‌های پروبیوتیک می‌توانند انواع مواد ضد میکروبی مانند هیدروژن پراکسید، اسید لاکتیک، سنتتاز پپتید غیر ریبوزومی (NRPS)، باکتریوسین‌ها و مواد مهارکننده مانند باکتریوسین‌ها (BLIS) را ترشح کنند.

2- پروبیوتیک‌ها و گاستروانتریت های ویروسی

در سال 1907، الی متچنیکف، اثرات مفید محصولات لبنی تخمیر شده را در جمعیت منطقه خود مشاهده کرد. اخیراً محققان تأثیرات مفید غذاهای تخمیر شده، به ویژه نقش باکتری‌های اسید لاکتیک (LAB2) مانند لاکتوباسیلوس، بیفیدوباکتر و سایر LAB که دارای خاصیت پروبیوتیکی هستند را تأیید کرده‌اند. باکتری‌های گرم مثبت لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتر به عنوان دو جنس که میکروبیوتای اولیه انسان‌ها را تشکیل می دهند، مطرح می باشند.

کلنیزاسیون، رشد و بلوغ دستگاه گوارش نوزاد که بلافاصله از بدو تولد شروع می‌شود و به مدت دو سال ادامه می یابد، توسط عوامل متعددی از جمله نحوه زایمان، رژیم غذایی، وزن مادر، استفاده از پروبیوتیک و پری بیوتیک و قرار گرفتن در معرض آنتی بیوتیک‌ها قبل، هنگام و پس از تولد، تعدیل می‌شود (1). این میکروبیوتا در دفاع میزبان در برابر عوامل بیماری‌زا نقش مهمی دارد (2). این میکروبیوتا می‌تواند سلامت اکوسیستم روده را حفظ کرده و آمادگی دفاعی را در برابر عوامل بیمارزای روده‌ای حفظ کرده و گاهی از بیماری‌های مزمن روده نیز جلوگیری کند (3). غلظت میکروبی در طول دستگاه گوارش با 103 سلول باکتریایی در میلی متر در دوازدهه و معده و 102 تا 103 سلول باکتریایی در میلی متر در ایلئوس و ایلئوم دیستال، 1010 تا 1012 سلول باکتریایی در میلی متر مکعب در روده بزرگ توزیع شده است (4).

متأسفانه به دلیل رژیم نادرست تغذیه، انسان‌ها میکروبیای اولیه را از دست می‌دهند که با افزایش بیماری‌ها از جمله بیماری‌های عفونی مرتبط است. برای ذخیره این میکروبیوتای اولیه، چندین سازمان بهداشتی استفاده از پروبیوتیک‌ها بصورت مکمل رژیم غذایی را پیشنهاد کرده اند.

3- گاستروانتریت ویروسی و نقش باکتری‌های گرم منفی میکروبیوتای روده

میکروبیوتای روده حاوی تعداد زیادی میکروب است و بزرگترین اکوسیستم در انسان و حیوانات را تشکیل می‌دهد (5). عفونت‌های دستگاه گوارش تأثیر زیادی بر بهداشت عمومی، هم در کشورهای در حال توسعه و هم کشورهای توسعه یافته دارد (6). ویروس‌ها شایعترین عامل مسبب درگیری در گاستروانتریت، به ویژه در نوزادان و کودکان هستند (7). منابع ویروس‌های روده (EnVs3) معمولاً آب و غذای آلوده از طریق بلع توسط راه مدفوعی دهانی هستند (8).

[2] lactic acid bacteria
[3] enteric viruses

پس از بروز عفونت، درمان علائم تنها راه پیشگیری از عوارض عفونت است. علاوه بر داروهای ضد تب، درمان آبگیری مجدد شایعترین درمان گاستروانتریت ویروسی است. عدم وجود داروهای ضد ویروسی خاص در برابر EnVها، دانشمندان را ملزم به یافتن جایگزینی می‌کند که می‌تواند در درمان چنین عفونت‌هایی کمک کند (9).

EnVها ویروس‌هایی هستند که قادر به تکثیر در بافت پوششی روده هستند، حتی اگر تنها چندین نوع، عامل ایجادکننده گاستروانتریت باشند (10). نورو ویروس‌ها (۴NoVs)، روتاویروس‌ها (RoVs5)، آربوویروس‌ها (۶AVs)، آدنو ویروس‌های روده (AdVs7) و انتروویروس‌ها (8EVS) شایعترین ویروس‌های ایجادکننده عفونت در دستگاه گوارش در سراسر جهان هستند (11). رئوویروس‌ها یکی از بسیاری از EnVهایی هستند که در دستگاه روده تکثیر می‌شوند، اما به طور کلی بدون علامت هستند. نوع دیگری از ویروس روده مانند پولیو ویروس می‌تواند پس از انتشار در بافت‌های محیطی باعث بیماری شدید شود (11). رتروویروس‌های خاص، از جمله ویروس تومور پستان موش (MMTV9)، می‌توانند از راه دهانی از طریق مادر آلوده از طریق شیر مادر منتقل شوند و پس از آن آن‌ها دستگاه گوارش را آلوده می‌کنند.

4- آیا میکروبیوتای روده گاستروانتریت ویروسی را تقویت یا مهار می‌کند؟

پس از مصرف EnVها، ویروس‌ها با میکروبیوتای روده ساکن در مجرای روده، که از یک میزبان به میزبان دیگر متفاوت است، ارتباط برقرار می‌کنند. به نظر می‌رسد که نتیجه این تعامل به ترکیب میکروبیوتا بستگی دارد. در بعضی از میزبان‌ها، میکروبیوتای خوب (تعداد زیادی باکتری مقیم) یک ناخوشایندی است. در حالی که در میزبان‌های دیگر، یک میکروبیوتای پیچیده (شامل انواع زیادی از سرده‌ها و گونه‌های میکروبی) در دفاع در برابر EnVها و جلوگیری از گاستروانتریت ویروسی مفید است. این فرضیه توسط چندین مطالعه که نشان داده‌اند میکروبیوتا روده از اهمیت زیادی برخوردار است و نقش‌های مختلفی را در کاهش عفونت توسط ویروس‌های روده‌ای ایفا می‌کند (11)، پشتیبانی می‌شود.

نقش باکتری‌های مقیم در تداوم عفونت‌های ویروسی روده قبلاً در مجموعه‌ای از مطالعات اخیر منتشر شده در سال 2011، با استفاده از پولیوویروس، رئوویروس و ویروس تومور پستان موش (MMTV) به عنوان مدل‌های EnV نشان داده شده است (12-14).

تکثیر پولیوویروس در روده در موش های تحت درمان با آنتی بیوتیک کاهش یافت، در حالی که بازسازی میکروبیوتای روده، عفونت پولیوویروس را دوباره احیا کرد (13). علاوه بر این، کوس و همکارانش نشان دادند که عفونت داخل صفاقی با پولیوویروس مستقل از وجود یا عدم وجود میکروبیوتا روده است (13). در یک مطالعه جدید (14)، نشان داده شده است که استفاده از آنتی

[4] Noroviruses
[5] rotaviruses
[6] arboviruses
[7] enteric adenoviruses
[8] enteroviruses
[9] mouse mammary tumor virus

بیوتیک‌های طیف گسترده در مدل موش آلوده به روتاویروس باعث کاهش عفونت های بعدی می‌شود. آن‌ها گزارش دادند که آنتی ژن‌های ویروسی در مدفوع کاهش یافته و در مقایسه با گروه کنترل موش‌ها، تأخیر در انتشار ویروس‌ها وجود دارد (14).

در یک تحقیق دیگر، از نورویروس موش (MuNoV[10]) برای بررسی اهمیت میکروبیوتای روده در عفونت زایی ویروسی استفاده شد (15–17). جونز و همکارانش نشان دادند که کاهش میکروبیوتا روده باعث کاهش تکثیر MuNoV در ایلئوم دیستال، غدد لنفاوی مزانتریک و روده بزرگ در مقایسه با گروه کنترل شد (16). کرنبائور و همکارانش نشان دادند که انتشار MuNoV در مدفوع در موش‌های تحت درمان با آنتی بیوتیک در مقایسه با موش‌های بدون درمان آنتی بیوتیکی کاهش یافت (17). مطالعه اخیر بالدریج و همکارانش نشان داد که استفاده از یک آنتی بیوتیک طیف وسیع در موش‌ها به MuNoV ایجاد یک عفونت دائمی کمک نکرد، در حالی‌که پیوند میکروبیوتای روده از یک موش سالم، عفونت زایی این ویروس را کاهش داد. علاوه بر این، آن‌ها گزارش دادند که عفونت سیستمیک با MuNoV مستقل از وجود یا عدم وجود میکروبیوتای روده است که توسط عفونت پولیو ویروس نشان داده شده است (15).

مکانیسم‌های مستقیم و غیرمستقیم میکروبیوتای روده، عفونت های EnV را تقویت می‌کنند.

5- پروبیوتیک های ضد ویروس‌های روده‌ای

پروبیوتیک‌های ضد ویروس‌های روده‌ای (AEnPs11) با مکانیسم‌های ضد ویروس به صورت مستقیم و غیر مستقیم با ویروس های روده ای مبارزه می کنند.

5-1- مکانیسم غیرمستقیم پروبیوتیک های ضد ویروس های روده‌ای

تنوع و ترکیب میکروبیوتا ارتباط مستقیمی با بروز گاستروانتریت، از جمله عفونت ویروسی دارد (18). به عنوان مثال، وجود تیره بیفیدو باکتریا در ماه‌های اول در میکروبیوتای روده نوزادان از اکثر عفونت‌های روده‌ای جلوگیری می‌کند (19). بنابراین، تقریباً همه پروبیوتیک‌های روده، توسط مکانیسم‌های غیرمستقیم می‌توانند نقش مهمی در جلوگیری یا درمان گاستروانتریت ویروسی داشته باشند. این پروبیوتیک‌ها، کوفاکتور عفونت ویروسی، یعنی مولکول‌های LPS[12] و HBGA glycan[13] که به ترتیب در باکتری‌های گرم منفی و برخی باکتری‌های مقیم وجود دارند، را کاهش می‌دهند (20). در غیر این صورت، پروبیوتیک‌های خوراکی با افزایش تعداد سلول‌های پروبیوتیکی و کاهش باکتری‌های مقیم و گرم منفی می‌توانند ترکیب میکروبیوتای روده را تغییر دهند.

5-2- مکانیسم مستقیم پروبیوتیک های ضد ویروس های روده‌ای

معنی مکانیسم مستقیم یعنی زمانی که ویروس‌های روده‌ای مستقیماً با سلول‌های پروبیوتیکی و یا ترکیبات متابولیتی آن‌ها تعامل می‌کنند. پروبیوتیک‌ها می‌توانند با چندین مکانیسم مختلف با ویروس‌های روده‌ای ارتباط برقرار کنند و آن‌ها را مهار کنند. در واقع، این

[10] murine Norovirus
[11] Anti-EnV probiotics
[12] Lipopolysaccharides
[13] Histo-Blood Group Antigen glycan

امر بستگی به ویژگی سویه پروبیوتیکی و نوع ویروس دارد. قبل از صحبت در مورد مکانیسم مستقیم یا تعامل مستقیم این پروبیوتیک‌ها، مراحل عفونت ویروسی باید ارائه شوند.

به طور کلی، EnVها می‌توانند سلول‌های هدف را با پنج مرحله به نام چرخه تکثیر ویروسی آلوده کنند. چرخه تکثیر ویروسی با اتصال ویروس به سلول‌های میزبان آغاز می‌شود، با نفوذ و بدون پوشش کردن، تشکیل ویروپلاسم ادامه می‌یابد و با بلوغ ذرات ویروس و انتشار پایان می‌یابد (21). هر EnV در مکانیسم‌های عفونت و یا چرخه تکثیر ویژگی خاص خود را دارد. به همین دلیل، مکانیسم مستقیم پروبیوتیک‌ها در رابطه با نوع EnV در زیر مورد بحث قرار خواهد گرفت.

6- گونه‌های پروبیوتیکی علیه عفونت‌های روتاویروس (RoV)

RoVها علت اصلی اسهال و گاستروانتریت حاد در نوزادان و خردسالان است (21). RoVها ویروس‌های بدون غشا حاوی dsRNA هستند. ویریون یا ذره RoV از سه لایه پروتئینی به نام ذره سه لایه (TLP14) تشکیل شده است (22).

مطالعات متعددی اثربخشی پروبیوتیک‌ها در درمان و پیشگیری از اسهال حاد از جمله عفونت‌های RoV را نشان داده‌اند. در این مطالعات از روتاویروس‌های انسانی، موش و گاو استفاده شد. بیشتر تحقیقات براساس علائمی از قبیل مدت زمان اسهال، مدت بستری، دفع ویروس در مدفوع و تعدیل سیستم ایمنی بدن بودند. چند مطالعه یک بررسی عمیق از مکانیسم عملکرد برخی از پروبیوتیک‌ها، به ویژه تعامل بین سلول‌های میزبان، ویروس و پروبیوتیک را انجام دادند.

6-1- آزمایش‌های بالینی (CT15)

در عفونت روتاویروس بیشترین مطالعه بر روی سویه‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتر انجام شده اند. لاکتوباسیلوس رومنوسوس GG (LGG) بهترین پروبیوتیک مورد مطالعه است که کاهش معنی دار مدت زمان اسهال و عفونت روتاویروس را نشان داده است (23, 24). اثرات سویه‌های پروبیوتیکی مختلف بر روی روتاویروس‌ها از سال 1991 با استفاده از کارآزمایی‌های تصادفی کنترل شده با دارونما و به صورت دوسوکور مورد بررسی قرار گرفتند (25-27). گوندالینی و همکارانش نشان دادند که مصرف LGG مدت زمان اسهال را در نوزادان مبتلا به عفونت روتاویروس کاهش می دهند (25).

ساوودرا و همکاران، شورنیکووا و همکاران، و سوگیتا و توگاوا فعالیت ضد روتاویروسی را در آزمایش های بالینی سویه‌های پروبیوتیکی که نام برده خواهند شد، نشان دادند: استرپتوکوک ترموفیلو (S. thermophiles) ، لاکتوباسیلوس روتری DSM 12246 و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوسLa5 (28-30). یک مطالعه دیگر نشان داد که سویه‌های LGG و لاکتوباسیلوس کازئی شیروتا (LcS) دارای فعالیت ضد ویروسی در برابر روتاویروس‌ها و ویروس گاستروانتریت قابل انتقال (TGEV) هستند. سویه LGG به دلیل بیش ترین قابلیت اتصال به رده‌های سلولی مختلف، قوی‌ترین فعالیت را نشان داد. علاوه بر اثر اتصال، به نظر می‌رسد که القای انتشار گونه‌های اکسیژن واکنش پذیر (ROS۱۶) در چنین فعالیتی نقش داشته باشد (31). علاوه بر این، یک مطالعه انجام

[14] triple-layered particle
[15] Clinical Trials
[16] reactive oxygen species

شده توسط گراندی و همکارانش در آزمایش RDBPC، اثربخشی سویه‌های پروبیوتیک در برابر عفونت‌های روتاویروس را با استفاده از ساکارومیسس بولاردی به تنهایی و ساکارومیسس بولاردی با مخلوطی از سویه‌های پروبیوتیک نشان داده شد. نتایج نشان دادند که این دو داروی پروبیوتیکی علائم عفونت را کاهش دادند (23). لاکتوباسیلوس روتاری، که Probio-16 نیز نام دارد، فعالیت ضد ویروسی را در برابر روتا ویروس خوکی نشان داد. این فعالیت به طور ضعیف نشان داده شده است (32).

مطالعات اخیر، تحقیقات عمیق و دقیق در مورد تعامل بین ذرات روتاویروس و سویه‌های پروبیوتیکی را آغاز کرده‌اند. از کشت سلولی برای نشان دادن آنچه بین ذرات روتاویروس و سویه‌های پروبیوتیکی اتفاق می‌افتد استفاده شد. رده‌های سلولی مختلف مورد بررسی قرار گرفتند. در برخی مطالعات از سلول‌های اپیتلیال خوک و اپیتلیال انسانی استفاده شد. ماراگوداکیس و همکارانش نشان دادند که حضور LGG و LcS باعث کاهش انتشار ROS می‌شود که می‌تواند آسیب سلول را کاهش دهد (31). لیو و همکاران مکانیسم فعالیت ضد ویروسی LGG در یک رده سلولی جدید به نام رده سلولی اپیتلیال روده کوچک خوکی (IPEC-J217) را به عنوان یک مدل برای بررسی تأثیر LGG بر ایمنی ذاتی در طی عفونت روتاویروس مورد مطالعه قرار دادند. آن‌ها نشان دادند که حضور LGG پاسخ IL-6 ناشی از روتاویروس را کاهش می‌دهد (33).

گونه‌های لاکتوباسیلوس برای اولین بار فعالیت ضد ویروسی را در برابر سویه روتا ویروس انسان نشان داده‌اند. لاکتوباسیلوس رومینیس SPM0211یک فعالیت ضد HuRoV را نشان داد که توسط یک اثر تعدیل ایمنی افزایش دهنده پاسخ یمنی نوع I IFN۱۸ها توضیح داده شد (34).

در آخرین تحقیق در مورد مکانیسم ضد ویروسی LGG، یک مدل تجربی جدید به منظور درک تعامل سودمند بین عوامل بیماری‌زا و پروبیوتیک‌ها تهیه شد. یک آزمایش درون تنی به نام ارگانوئید روده‌ای (مشتق از سلول‌های بنیادی +Lgr5) توسط اوکی یوشیدا۱۹ و همکارانش انجام شد (35). سویه‌های LGG افزایش بیان ژن TLR3۲۰ را به همراه داشتند. TLR3 کلید اساسی در پاسخ‌های ایمنی ذاتی علیه روتاویروس است که در روده موش‌ها در هر دو آزمایش برون تنی و درون تنی، بدون تغییر در سایر بیان‌های ژن TLR نشان داده شد. علاوه بر این، LGG سطوح mRNA آلفا اینترفرون (IFN-α) و یک کموکین نوتروفیل (CXCL1) را افزایش داد. علاوه بر این، سایر سویه‌های پروبیوتیکی، بیفیدوباکتر بیفیدوم و لاکتوباسیلوس پاراکازئی، نتوانستند سطح mRNA TLR3 را در شرایط درون تنی افزایش دهند (35). این یافته‌ها فرضیه اختصاصی بودن گونه‌های پروبیوتیکی در برابر ویروس‌ها را تأیید می‌کنند. بنابراین فعالیت ضد ویروسی به صورت خاص سویه ویروس رخ داده است.

سویه‌های پروبیوتیک بیفیدوباکتر نیز در برابر RoVها با استفاده از آزمایش‌های درون تنی و برون تنی مورد بررسی قرار گرفتند. بیفیدوباکتر لانگومSPM1205 و SPM1206 فعالیت ضد ویروسی علیه سویه HuRoV Wa در یک مدل موش نوزاد آلوده و سلول‌های Caco-2 را نشان دادند. دو سویه بیفیدوباکتر تأثیر تعدیل سیستم ایمنی بر پاسخ‌های ایمنی IFN نوع I را نشان دادند

[17] porcine small intestinal epithelial cell line
[18] interferon
[19] Aoki-Yoshida
[20] Toll-like receptor 3

(34). یک توالی ژنوم کامل از بیفیدوباکتر لانگوم زیرسویه اینفنتیس CECT 7210 در سال 2015 توسط (36) انجام شد. این سویه در مطالعه‌ای که توسط مونوز و همکارانش انجام شد (37)) ، یک اثر مستقیم بر روی گونه‌های روتاویروس در هر آزمایش برون تنی (کشت سلول MA-104 و HT-29) و درون تنی (مدل موش McN) را نشان دادند. مکانیسم تعدیل ایمنی اثر اصلی این سویه بود (37). پس از توالی کامل بیفیدوباکتر لانگوم زیرسویه اینفنتیس CECT 7210 ، آن‌ها گزارش دادند که بیش از 360 ژن در این سویه در مقایسه با توالی ژنوم کامل بیفیدوباکتر لانگوم157F وجود دارد (36). بنابراین، باید تحقیقات عمیق‌تری در مورد این سویه انجام شود تا مکانیسم دقیق فعالیت ضد ویروسی و بطور خاص فعالیت ضد HRoV مشخص شود.

7- سویه‌های پروبیوتیکی در برابر عفونت‌های نورووویروس

نورووویروس‌ها (NoVs[21]) ویروس‌های RNAدار بدون پوشش متعلق به خانواده کلیسی ویروس هستند. NoVها از طریق مسیر مدفوع و دهان منتقل می‌شود و باعث بیماری گوارشی با استفراغ و اسهال حاد به مدت 24 تا 48 ساعت می‌شوند (38). NoVها هر ساله باعث 267 میلیون عفونت و بیش از 200 هزار مرگ و میر، بیشتر در نوزادان و افراد مسن می‌شوند (39, 40). NoVها برای شروع چرخه عفونت به گیرنده‌های میزبان احتیاج دارند. دبینک و همکارانش گزارش کردند که HBGA یک گروه متنوع از کربوهیدرات‌های بیان شده در سطوح مخاطی است، که گیرنده‌های اصلی NoVها هستند، به ویژه برای ژنوتیپ GII.4 که به نظر می‌رسد موجب بیشترین عفونت NoV انسانی می‌شود زیرا آن‌ها می‌توانند به ترشح‌کننده‌هایA، B و O متصل که اکثریت آن‌ها (80٪) جمعیت هستند بچسبند (38). بیان HBGA به ژن fut2 بستگی دارد که آنزیمی به نام فوکوسیل ترانسفراز را کدنویسی می‌کند. ژنوتیپ GI.1 (ویروس نورواک) نمی‌تواند بیماران با ژن fut2 غیرعملکردی (به آن میزبان غیرترشح کننده گفته می‌شود) را آلوده کند. با این حال، برخی از سویه‌های NoV قادر به اتصال به سایر گیرنده‌ها مانند کربوهیدرات‌های لوئیس هستند (41, 42).

پاسخ ایمنی برای محاصره عفونت NoVها و گسترش ویروسی بسیار مهم است. ترشح خاص گروه ژنی IgA، اصلی‌ترین پاسخ ایمنی هومورال در برابر NoV هاست (43). پاسخ CD4+ Th1 در پاسخ ایمنی سلولی در برابر NoVها ضروری است که باعث افزایش تولید IFNγ و IL-2[22] می‌شود (44). به دلیل تنوع ژنتیکی گسترده آن‌ها، جلوی توسعه درمان‌های ضد ویروسی و واکسن‌ها برای مبارزه با عفونت NoV گرفته شده است. به تازگی، ماهیت غیرقابل کشت بودن NoVها با استفاده از یک مدل سلول B برطرف شده است. بدین ترتیب، بیماری‌زایی و چرخه تکثیر عمیقاً در کشت سلولی و مدل‌های حیوانی درک شده‌اند (45). به نظر می‌رسد راهکارهای پیشگیری به طور عمده در نوزادان و افراد مسن بیشترین تأثیر را دارند. برای جلوگیری و درمان HuNoVها، چندین محقق روی نقش پروبیوتیک‌ها در چنین عفونتی کار کرده‌اند. اثربخشی پروبیوتیکی در عفونت‌های NoV با استفاده از آزمایش‌های برون‌تنی و درون‌تنی و آزمایش‌های بالینی مورد ارزیابی قرار گرفت.

LcS وارد شده در شیر تخمیر شده تب را در بیماران مسن آلوده به NoV کاهش داد. گروه پروبیوتیک (39 نفر) در مقایسه با گروه کنترل بهبودی سریع تری را نشان دادند. علاوه بر این، غلظت اسید استیک در مدفوع افزایش یافته است، و بدین ترتیب تیره

[21] Norovirus
[22] interleukin

بیفیدوباکتر و لاکتوباسیلوس مسلط شدند (46). تاکدا و همکارانش گزارش دادند که تجویز LcS با تولید IL-12 توسط ماکروفاژها در پاسخ به LcS فعالیت سلولهای کشنده طبیعی (NK) را بهبود می‌بخشد (47).

لاکتوکوک لاکتیسزیرسویه لاکتیسLM0230 (L. lactis ssp. Lactis LM0230) سویه‌های پروبیوتیکی برای فعالیت ضد ویروسی در برابر ویروس کلیسی گربه (FCV)، یک جانشین HuNoV، مورد بررسی قرار گرفتند. این سویه، تعلیق سلول باکتریایی (BCS) و متابولیت های آن فیلتر بدون سلول محیط رشد باکتریایی (BGMF۲۳) به رده سلول‌های کلیه گربه کراندل ریس (CRFK) اضافه شدند. نتایج نشان داد که CRFK پیش پالایش شده با BCS و BGMF باعث کاهش غیرقابل توجهی در تیتر FCV شد. پیش پالایش FCV توسط BCS، پس از 24 ساعت کاهش در تیتر FCV را نتیجه داد. انکوباسیون همزمان FCV و BCS در سلول‌های CRFK کاهش صد درصدی تیتر ویروس را نشان دادند (48).

یک مطالعه جدید یک سویه پروبیوتیکی مهندسی شده از لاکتوباسیلوس پاراکازئی را ارزیابی کرد که این سویه قادر به تولید پروتئین 3D8 scFv (یک پروتئین ضد ویروسی است که می‌تواند در سلول‌های میزبان نفوذ کند و مولکول‌های نوکلئیک اسید را هیدرولیز کند) در برابر MuNoV است. نتایج نشان دادند که لاکتوباسیلیوس پاراکازئی 3D8 scFv اثر نفوذ به سلول خود را حفظ کرده و بنابراین اسیدهای نوکلئیک داخل سلولی هیدرولیز شده‌اند. پیش پالایش سلول‌های RAW264.7 با این سویه پروبیوتیک مهندسی شده مانع از آپوپتوز سلولی ناشی از عفونت MuNoV می شدند. علاوه براین، لاکتوباسیلوس پاراکازئی 3D8 scFv میزان mRNA پروتئین کپسید ویروسی (VP1) را کاهش داده است (49).

اخیراً، بیفیدوباکتر ادلسانتیس یک فعالیت ضد ویروسی علیه MuNoV را به عنوان یک جانشین HuNoV نشان داد. نتایج نشان دادند که مهار در مرحله اتصال ویروسی رخ نمی‌دهد. با استفاده از VLP۲۴ها به عنوان مدل، بیفیدوباکتر ادلسانتیس اتصال VLPهای HuNoV GI.1 به سلولهای Caco-2 و HT-29 را کاهش داد، در حالی که هیچ تأثیری در حضور GII.4 VLPs مشاهده نشد (50).

8- پروبیوتیک و سایر ویروس‌های روده ای

آستروویروس‌ها، ویروس‌های بدون پوشش با ssRNA۲۵ سنس مثبت هستند. گروه آستروویروس‌ها از دو تیره، مامستروویروس (MAstV) و آواستروویروس (AAstV) ، به ترتیب بر اساس گونه‌های پستانداران و پرندگان، تشکیل می‌شوند (51). آستروویروس‌ها می‌توانند طیف گسترده‌ای از گونه‌های پستانداران، مانند گربه‌ها (52) ، سگ‌ها (53) ، موش‌ها (54) ، گوسفندان (55) و گاوها را آلوده کنند (56). این پستانداران همیشه در تماس مستقیم با انسان هستند. HAstVها یکی از مهمترین علل گاستروانتریت حاد در بیماران تازه متولد شده و نوزاد هستند (57). انتقال گونه‌های متقابل به ویژه در ماکیان به عنوان گونه‌های پرندگان (58) و بین خوک‌ها، گربه‌ها و انسان‌ها به عنوان گونه‌های پستانداران (59) مکرر است. بنابراین، پتانسیل زئونوتیکی (قابل انتقال بین انسان و حیوان) این ویروس‌ها بالا است، و احتمالاً انتقال غیر انسان به انسان در آینده نیز رخ می‌دهد (51). بعضی از

[23] bacterial growth medium cell-free filtrate
[24] Virus-like particle
[25] Single-stranded RNA

نویسندگان حدس زده‌اند که پروبیوتیک‌ها، که ممکن است در بسیاری از مراحل مختلف با چرخه بیولوژیکی ویروس‌های روده تداخل داشته باشند، می‌توانند به عنوان عاملی برای پیشگیری و یا درمان عفونت‌های ویروسی روده‌ای مفید باشند (60, 61).

انتروکوک فاسیوم NCIMB 10415 اولین گونه پروبیوتیکی است که توسط اتحادیه اروپا (EU) به عنوان یک افزودنی خوراکی پروبیوتیکی برای حیوانات، از جمله خوکچه‌ها، مجاز شد. اثرات تعدیل سیستم ایمنی انتروکوک فاسیومNCIMB 10415 در چندین مطالعه نشان داده شده است (62, 63). ویروس گاستروانتریت قابل انتقال (TGEV)، یک کروناویروس انتروپاتوژن، باعث 100 درصد مرگ و میر خوک‌های تازه متولد شده پس از گاستروانتریت شدید می‌شود. TGEV همچنین می‌تواند در بعضی موارد بافت تنفسی را آلوده کند (63). چای[26] و همکارانش در آزمایشگاه فعالیت ضد ویروسی انتروکوک فاسیوم NCIMB 10415 را در برابر TGEV با استفاده از رده‌های سلولی بیضه خوک (ST) نشان دادند. آن‌ها نشان دادند که این سویه مکانیسم ضد ویروسی مضاعف دارد. در مرحله اول، سویه می‌تواند ذرات ویروس را در دیواره سلولی خود به دام بیندازد و در نتیجه از بروز عفونت جلوگیری کند. مکانیسم دوم تحریک سلول‌های یوکاریوتی است که NO، IL-6 و IL-8 تولید می‌کنند (64).

علاوه بر عفونت‌های دستگاه گوارش، انتروویروس می‌تواند باعث عفونت خارج روده‌ای شود. از طریق مسیر دهانی ویروس کوکساکی نوع A سویه 16 (CA16) و انتروویروس 71 (EV71) باعث بیماری دست، پا و دهان می‌شوند (HFMD) (65). این عفونت ویروسی منجر به عوارض و مرگ و میر در چندین منطقه، از جمله آسیا اقیانوسیه و اروپا می‌شود (66). HFMD می‌تواند منجر به عوارض عصبی و اختلال عملکرد قلبی–ریوی ناشی از عفونت حاد EV71 شود (67).

لیو و همکارانش یک واکسن دو ظرفیتی علیه EV71، که کارآزمایی‌های بالینی مرحله III را تکمیل کرده است، را ارزیابی کردند (68, 69). از آنجایی که CA16 و EV71 با مسیر دهانی عمل می‌کنند، انگ ییِنو همکارانش تأثیر کلونیزه شدن این سویه پروبیوتیکی بر HFMD را با استفاده از عضلات اسکلتی انسان و رده‌های سلولی روده بزرگ ارزیابی کردند. نویسندگان نشان دادند که استفاده از لاکتوباسیلوس روتری پروتکتیس(70)(ATCC 55730) ، بار ویروسی را کاهش داد. علاوه بر این، این فعالیت ضد ویروسی وابسته به دوز است. لاکتوباسیلوس روتری پروتکتیس با CA6، CA16 و EV71 از نظر فیزیکی در تعامل بوده و ورود ویروس به سلول‌های یوکاریوتی را مختل می‌کند. این فعالیت ضد ویروسی ویژه سویه پروبیوتیکی ویروس به نظر می‌رسد، زیرا هیچ اثر ضد ویروسی با استفاده از سویه ویروس کوکساکی B (ویروس هدف) در حضور یک سویه پروبیوتیک دیگر LcS نشان داده نشده است (69) .

نتیجه‌گیری

پروبیوتیک‌ها مکانیسم‌های مستقیم و غیرمستقیم در ریشه کن کردن ویروس‌های روده‌ای را نشان دادند. اثربخشی پروبیوتیک‌ها در اکوسیستم روده از اهمیت بیشتری برخوردار است، زیرا با مکانیسم‌های مختلفی از جمله تعدیل سیستم ایمنی که تقریباً تنها مکانیسم موجود برای پروبیوتیک‌ها در عفونت‌های تنفسی است، با عفونت‌های ویروسی ارتباط برقرار می‌کنند.

[26] Chai

با تغییر ترکیب میکروبیوتا می‌توان تاثیر ویروس‌های روده‌ای را کاهش داد. در غیر این صورت، HBGA و LPS مولکول‌هایی هستند که توسط باکتری‌های گرم منفی قابل ارائه هستند و یک گیرنده ثانویه برای ویروس‌های روده‌ای مانند NoVs و RoV محسوب می‌شوند. به همین دلیل، استفاده از پروبیوتیک‌ها میکروبیوتا را به فلور غالب گرم مثبت تغییر می‌دهد، که باعث می‌شود کوفاکتور گرم منفی عفونت ویروسی مسدود شود.

علاوه بر این، تعامل فیزیکی پروبیوتیک‌ها در مطالعات متعددی که ظرفیت برخی از سویه‌های پروبیوتیکی در دام ویروس‌ها را تأیید می‌کنند، تأیید شده است.

استفاده از آنتی بیوتیک‌ها در گاستروانتریت ویروسی یک شمشیر دو لبه است. درمان با آنتی بیوتیک طیف گسترده، سویه‌های پروبیوتیک را از بین می‌برد یا تکثیر آن‌ها را مهار می‌کند. در مقابل، استفاده از ضد آنتی بیوتیک‌های گرم منفی مانند پلی میکسین B یا سایر آنتی بیوتیک‌های با طیف گسترده می‌توانند یک عامل مهم در انسداد چرخه ویروسی باشند. علاوه بر این، استفاده از سویه‌های پروبیوتیک با مقاومت آنتی بیوتیکی باید در هنگام درمان گاستروانتریت ویروسی مورد بررسی قرار گیرد تا پروبیوتیک‌ها زنده بمانند و فلور ساکن گرم منفی از بین برود. مقاومت آنتی بیوتیکی سویه‌های پروبیوتیکی تجاری را می‌توان در بررسی انجام شده توسط شارما و همکارانش یافت (71).

مطالب ذکر شده بر اساس آخرین نتایج و دستاوردهای محققان که در قالب مقالات متعدد چاپ شده بود، بررسی گردید. پژوهش های دانشمندان در مورد اثرات پروبیوتیک ها بر عفونت های گوارشی ویروسی در انسان و دام هم چنان ادامه دارد.

مراجع

1. *Fauci AS, Touchette NA, Folkers GK. Emerging infectious diseases: a 10-year perspective from the National Institute of Allergy and Infectious Diseases. International Journal of Risk & Safety in Medicine. 2005;17(3, 4):157-67.*

2. *Council USNI. National intelligence estimate: the global infectious disease threat and its implications for the United States. Environmental Change and Security Project report. 2000(6):33-65.*

3. *Al Kassaa I, Hober D, Hamze M, Chihib NE, Drider D. Antiviral potential of lactic acid bacteria and their bacteriocins. Probiotics and antimicrobial proteins. 2014;6(3-4):177-85.*

4. *Golkar Z, Bagasra O, Pace DG. Bacteriophage therapy: a potential solution for the antibiotic resistance crisis. The Journal of Infection in Developing Countries. 2014;8(02):129-36.*

5. *Gordon YJ, Romanowski EG, McDermott AM. A review of antimicrobial peptides and their therapeutic potential as anti-infective drugs. Current eye research. 2005;30(7):505-15.*

6. *Rappuoli R, Pizza M, Del Giudice G, De Gregorio E .Vaccines, new opportunities for a new society. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2014;111(34):12288-93.*

7. *Hardy H, Harris J, Lyon E, Beal J, Foey AD. Probiotics, prebiotics and immunomodulation of gut mucosal defences: homeostasis and immunopathology. Nutrients. 2013;5(6):1869-912.*

8. *Al Kassaa I, Hober D, Hamze M, Caloone D, Dewilde A, Chihib N-e, et al. Vaginal Lactobacillus gasseri CMUL57 can inhibit herpes simplex type 2 but not Coxsackievirus B4E2. Archives of microbiology. 2015;197(5.64-657:(*

9. *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(3):203-20.*

10. *Aureli P, Capurso L, Castellazzi AM, Clerici M, Giovannini M, Morelli L, et al. Probiotics and health: an evidence-based review. Pharmacological research. 2011;63(5):366-76.*

11. *Collado MC, Isolauri E, Salminen S, Sanz Y. The impact of probiotic on gut health. Current drug metabolism. 2009;10(1):68-78.*

12. *Rodríguez JM, Murphy K, Stanton C, Ross RP, Kober OI, Juge N, et al. The composition of the gut microbiota throughout life, with an emphasis on early life. Microbial ecology in health and disease. 2015;26(1):26050.*

13. *Gordon S. Elie Metchnikoff: father of natural immunity. European journal of immunology. 2008;38(12):3257-64.*

14. *Wardlaw T, Salama P, Brocklehurst C, Chopra M, Mason E. Diarrhoea: why children are still dying and what can be done. The lancet. 2010;37.2-870:(9718)5*

15. *Menon VK, George S, Sarkar R, Giri S, Samuel P, Vivek R, et al. Norovirus gastroenteritis in a birth cohort in Southern India. PLoS One. 2016;11(6):e0157007.*

16. *Joshi SS, Howell AB, D'Souza DH. Reduction of enteric viruses by blueberry juice and blueberry proanthocyanidins. Food and environmental virology. 2016;8(4):235-43.*

17. *Javier B, Rodríguez-Díaz J. Molecular virology of enteric viruses (with emphasis on caliciviruses). Viruses in foods: Springer; 2006. p. 43-100.*

18. *Karst SM .The influence of commensal bacteria on infection with enteric viruses. Nature Reviews Microbiology. 2016;14(4):197-204.*

19. *Kane M, Case LK, Kopaskie K, Kozlova A, MacDearmid C, Chervonsky AV, et al. Successful transmission of a retrovirus depends on the commensal microbiota. Science. 2011;334(6053):245-9.*

20. *Kuss SK, Best GT, Etheredge CA, Pruijssers AJ, Frierson JM, Hooper LV, et al. Intestinal microbiota promote enteric virus replication and systemic pathogenesis. Science. 2011;334(6053):249-52.*

21. *Uchiyama R, Chassaing B, Zhang B, Gewirtz AT. Antibiotic treatment suppresses rotavirus infection and enhances specific humoral immunity. The Journal of infectious diseases. 2014;210(2):171-82.*

22. *Baldridge MT, Nice TJ, McCune BT, Yokoyama CC, Kambal A, Wheadon M, et al. Commensal microbes and interferon-λ determine persistence of enteric murine norovirus infection. Science. 2015;347(6219):266-9.*

23. *Jones MK, Watanabe M, Zhu S, Graves CL, Keyes LR, Grau KR, et al. Enteric bacteria promote human and mouse norovirus infection of B cells. Science. 2014;346(6210):755-9.*

24. *Kernbauer E, Ding Y, Cadwell K. An enteric virus can replace the beneficial function of commensal bacteria. Nature. 2014;516(7529):94-8.*

25. *Picard C, Fioramonti J, Francois A, Robinson T ,Neant F, Matuchansky C. bifidobacteria as probiotic agents–physiological effects and clinical benefits. Alimentary pharmacology & therapeutics. 2005;22(6):495-512.*

26. *Liepke C, Adermann K, Raida M, Mägert HJ, Forssmann WG, Zucht HD. Human milk provides peptides highly stimulating the growth of bifidobacteria. European Journal of Biochemistry. 2002;269(2):712-8.*

27. *Karst SM. Identification of a novel cellular target and a co-factor for norovirus infection–B cells & commensal bacteria. Gut microbes. 201.71-266:(4)6;5*

28. *Desselberger U. Differences of rotavirus vaccine effectiveness by country: likely causes and contributing factors. Pathogens. 2017;6(4):65.*

29. *Jayaram H, Estes M, Prasad BV. Emerging themes in rotavirus cell entry, genome organization ,transcription and replication. Virus research. 2004;101(1):67-81.*

30. *Grandy G, Medina M, Soria R, Terán CG, Araya M. Probiotics in the treatment of acute rotavirus diarrhoea. A randomized, double-blind, controlled trial using two different probiotic preparations in Bolivian children. BMC infectious diseases. 2010;10(1):1-7.*

31. *Szajewska H, Wanke M, Patro B. Meta-analysis: The effects of Lactobacillus rhamnosus GG supplementation for the prevention of healthcare-associated diarrhoea in children. Alimentary pharmacology & therapeutics. 2011;34(9):1079-87.*

32. *Guandalini S, Pensabene L, Zikri MA, Dias JA, Casali LG, Hoekstra H, et al. Lactobacillus GG administered in oral rehydration solution to children with acute diarrhea: a multicenter European trial .Journal of pediatric gastroenterology and nutrition. 2000;30(1):54-60.*

33. *Isolauri E, Rautanen T, Juntunen M, Sillanaukee P, Koivula T. A human Lactobacillus strain (Lactobacillus casei sp strain GG) promotes recovery from acute diarrhea in children. Pediatrics. 1991;88(1):90-7.*

34. *Shornikova A-V, Casas IA, Isolauri E, Mykkänen H, Vesikari T. Lactobacillus reuteri as a therapeutic agent in acute diarrhea in young children. Journal of pediatric gastroenterology and nutrition. 1997;24(4):399-404.*

35. *Saavedra JM, Bauman NA, Perman J, Yolken R, Oung I. Feeding of Bifidobacterium bifidum and Streptococcus thermophilus to infants in hospital for prevention of diarrhoea and shedding of rotavirus. The lancet. 1994;344(8929):1046-9.*

36. *Shornikova A-V, Casas IA ,Mykkänen H, Salo E, Vesikari T. Bacteriotherapy with Lactobacillus reuteri in rotavirus gastroenteritis. The Pediatric infectious disease journal. 1997;16(12):1103-7.*

37. *Sugita T. Efficacy of Lactobacillus preparation Biolactis powder in children with rotavirus enteritis. Jpn J Pediatr. 1994;47:2755-62.*

38. *Maragkoudakis PA, Chingwaru W, Gradisnik L, Tsakalidou E, Cencic A. Lactic acid bacteria efficiently protect human and animal intestinal epithelial and immune cells from enteric virus infection. International journal of food microbiology. 2010;141:S91-S7.*

39. *Seo BJ, Mun MR, Kim C-J, Lee I, Chang Y-H, Park Y-H. Bile tolerant Lactobacillus reuteri isolated from pig feces inhibits enteric bacterial pathogens and porcine rotavirus. Veterinary research communications. 2010;34(4):323-33.*

40. *Liu F, Li G, Wen K, Bui T, Cao D, Zhang Y, et al. Porcine small intestinal epithelial cell line (IPEC-J2) of rotavirus infection as a new model for the study of innate immune responses to rotaviruses and probiotics .Viral immunology. 2010;23(2):135-49.*

41. *Kang JY, Lee DK, Ha NJ, Shin HS. Antiviral effects of Lactobacillus ruminis SPM0211 and Bifidobacterium longum SPM1205 and SPM1206 on rotavirus-infected Caco-2 cells and a neonatal mouse model. Journal of Microbiology. 2015;53(11):796-803.*

42. *Aoki-Yoshida A, Saito S, Fukiya S, Aoki R, Takayama Y, Suzuki C, et al. Lactobacillus rhamnosus GG increases Toll-like receptor 3 gene expression in murine small intestine ex vivo and in vivo. Beneficial microbes. 2016;7(3):4-21 .9*

43. *Chenoll E, Rivero M, Codoñer FM, Martinez-Blanch JF, Ramón D, Genovés S, et al. Complete genome sequence of Bifidobacterium longum subsp. infantis strain CECT 7210, a probiotic strain active against rotavirus infections. Genome announcements. 20:(2)3;15e00105-15.*

44. *Moreno Muñoz JA, Chenoll E, Casinos B, Bataller E, Ramón D, Genovés S, et al. Novel probiotic Bifidobacterium longum subsp. infantis CECT 7210 strain active against rotavirus infections. Applied and environmental microbiology. 2011.83-8775:(24)77;*

45. *Debbink K, Lindesmith LC, Donaldson EF, Baric RS. Norovirus immunity and the great escape. 2012.*

46. *Donaldson EF, Lindesmith LC, LoBue AD, Baric RS. Viral shape-shifting: norovirus evasion of the human immune system. Nature Reviews Microbiology. 2010;8(3):231-41.*

47. *Patel MM, Widdowson M-A, Glass RI, Akazawa K, Vinjé J, Parashar UD. Systematic literature review of role of noroviruses in sporadic gastroenteritis. Emerging infectious diseases. 2008;14(8):1224.*

48. *de Rougemont A, Ruvoen-Clouet N, Simon B, Estienney M, Elie-Caille C, Aho S, et al. Qualitative and quantitative analysis of the binding of GII. 4 norovirus variants onto human blood group antigens. Journal of virology. 2011;85(9):4057-70.*

49. *Lindesmith L, Moe C, Marionneau S, Ruvoen N, Jiang X, Lindblad L, et al. Human susceptibility and resistance to Norwalk virus infection. Nature medicine. 2003;9(5):548-53.*

50. *Reeck A, Kavanagh O, Estes MK, Opekun AR, Gilger MA, Graham DY, et al. Serological correlate of protection against norovirus-induced gastroenteritis. The Journal of infectious diseases. 2010;202(8):1212-8.*

51. *Lindesmith LC, Donaldson E, Leon J, Moe CL, Frelinger JA, Johnston RE, et al. Heterotypic humoral and cellular immune responses following Norwalk virus infection. Journal of virology. 2010;84(4):1800-15.*

52. *Karst SM, Wobus CE, Goodfellow IG, Green KY, Virgin HW. Advances in norovirus biology. Cell host & microbe. 2014;15(6):668-80.*

53. *Nagata S, Asahara T, Ohta T, Yamada T, Kondo S, Bian L, et al. Effect of the continuous intake of probiotic-fermented milk containing Lactobacillus casei strain Shirota on fever in a mass outbreak of norovirus gastroenteritis and the faecal microflora in a health service facility for the aged. British Journal of Nutrition. 20.56-549:(4)106;11*

54. *Takeda K, Suzuki T, Shimada SI, Shida K, Nanno M, Okumura K. Interleukin-12 is involved in the enhancement of human natural killer cell activity by Lactobacillus casei Shirota. Clinical & Experimental Immunology. 2006;146(1):109-15.*

55. *Aboubakr HA, El-Banna AA, Youssef MM, Al-Sohaimy SA, Goyal SM. Antiviral effects of Lactococcus lactis on feline calicivirus, a human norovirus surrogate. Food and environmental virology. 2014;6(4):282-9.*

56. *Hoang PM, Cho S, Kim KE, Byun SJ, Lee T-K ,Lee S. Development of Lactobacillus paracasei harboring nucleic acid-hydrolyzing 3D8 scFv as a preventive probiotic against murine norovirus infection. Applied microbiology and biotechnology. 2015;99(6):2793-803.*

57. *Li D, Breiman A, Le Pendu J, Uyttendaele M. Anti-viral Effect of Bifidobacterium adolescentis against Noroviruses. Frontiers in microbiology. 2016;7:864.*

58. *Bosch A, Pintó RM, Guix S. Human astroviruses. Clinical microbiology reviews. 2014;27(4):1048-74.*

59. *Hoshino Y, Zimmer J, Moise N, Scott F. Detection of astroviruses in feces of a cat with diarrhea. Archives of virology. 1981;70(4):373-6.*

60. *Castro T, Cubel Garcia R, Costa E, Leal R, Xavier Md, Leite J. Molecular characterisation of calicivirus and astrovirus in puppies with enteritis.2013 .*

61. *Kjeldsberg E, Hem A. Detection of astroviruses in gut contents of nude and normal mice. Archives of virology. 1985;84(1-2):135-40.*

62. *Jonassen CM, Jonassen TØ, Sveen TM, Grinde B. Complete genomic sequences of astroviruses from sheep and turkey: comparison with related viruses. Virus research. 2003;91(2):195-201.*

63. *Woode G, Bridger J. Isolation of small viruses resembling astroviruses and caliciviruses from acute enteritis of calves. Journal of medical microbiology. 1978;11(4):441-52.*

64. *Walter JE, Mitchell DK. Astrovirus infection in children. Current opinion in infectious diseases. 2003;16(3):247-53.*

65. *Biđin M, Biđin Z, Majnarić D, Tišljar M, Lojkić I. Circulation and phylogenetic relationship of chicken and turkey-origin astroviruses detected in domestic ducks (Anas platyrhynchos domesticus). Avian Pathology. 2012;41(6):555-62.*

66. *Ulloa JC, Gutiérrez MF. Genomic analysis of two ORF2 segments of new porcine astrovirus isolates and their close relationship with human astroviruses. Canadian journal of microbiology. 2010;56(7):569-77.*

67. *Britton RA, Versalovic J. Probiotics and gastrointestinal infections. Interdisciplinary perspectives on infectious diseases. 2008;2008.*

68. *Colbère-Garapin F, Martin-Latil S, Blondel B, Mousson L, Pelletier I, Autret A, et al. Prevention and treatment of enteric viral infections: possible benefits of probiotic bacteria. Microbes and infection. 2007;9(14-15):1623-31.*

69. *Ganesh B, Richter J, Blaut M, Loh G. Enterococcus faecium NCIMB 10415 does not protect interleukin-10 knock-out mice from chronic gut inflammation. Beneficial microbes. 2012;3(1):43-50.*

70. *Sola I, Castilla J, Pintado B, Sánchez-Morgado JM, Whitelaw CBA, Clark AJ, et al. Transgenic mice secreting coronavirus neutralizing antibodies into the milk. Journal of virology. 1998;72(5):3762-72.*

71. *Chai W, Burwinkel M, Wang Z, Palissa C, Esch B, Twardziok S, et al. Antiviral effects of a probiotic Enterococcus faecium strain against transmissible gastroenteritis coronavirus. Archives of virology.807-799;(4)158;2013 .*

72. *Bruu AL. Enteroviruses: polioviruses, coxsackieviruses, echoviruses and newer enteroviruses. A Practical Guide to Clinical Virology. 2002:44-5.*

73. *Nguyen NT, Pham HV, Hoang CQ, Nguyen TM, Nguyen LT, Phan HC, et al. Epidemiological and clinical characteristics of children who died from hand, foot and mouth disease in Vietnam, 2011. BMC infectious diseases. 2014;14(1):1-7.*

74. *Wang S-M, Liu C-C. Update of enterovirus 71 infection: epidemiology, pathogenesis and vaccine. Expert review of anti-infective therapy. 2014;12(4):447-56.*

75. *Sun S, Jiang L, Liang Z, Mao Q, Su W, Zhang H, et al. Evaluation of monovalent and bivalent vaccines against lethal Enterovirus 71 and Coxsackievirus A16 infection in newborn mice. Human vaccines & immunotherapeutics. 2014;10(10):2885-95.*

76. *Ang LYE, Too HKI, Tan EL, Chow T-KV, Shek P-CL, Tham E, et al. Antiviral activity of Lactobacillus reuteri Protectis against Coxsackievirus A and Enterovirus 71 infection in human skeletal muscle and colon cell lines. Virology journal. 2016;13(1):1-12.*

77. *Rosander A, Connolly E, Roos S. Removal of antibiotic resistance gene-carrying plasmids from Lactobacillus reuteri ATCC 55730 and characterization of the resulting daughter strain, L. reuteri DSM 17938. Applied and environmental microbiology. 2008;74(19):6032-40.*

78. *Sharma P, Tomar SK, Goswami P, Sangwan V, Singh R. Antibiotic resistance among commercially available probiotics. Food Research International. 2014;57:176-95.*