

WPŁYW PROBIOTYKÓW NA INFEKCJE WIRUSOWE

Izabela Krzymińska

Instytut Technologii Mikrobiologicznych w Turku

Piotr Nowotnik

ProBiotics Polska

Wirusy to skomplikowane cząsteczki organiczne, które nie mają budowy komórkowej, tzn. nie są zdolne do wzrostu ani rozmnażania się. Nie posiadają także własnych enzymów, dlatego nie prowadzą żadnych procesów przemiany materii i energii charakterystycznych dla bakterii, grzybów, roślin lub zwierząt. Nietypowa jest również budowa ich materiału genetycznego - poza typowymi, dwuniciowymi spiralnie skręconymi cząsteczkami, występują formy jednoniciowe DNA, u innych z kolei może występować dwuniciowa cząsteczka RNA, która nie jest typowa dla organizmów żywych. Do momentu wniknięcia do komórki gospodarza (bakteryjnej, roślinnej lub zwierzęcej) nie przejawiają także żadnych funkcji życiowych. Wirusy mają za to zdolność do kierowania metabolizmem zainfekowanej komórki i w sposób dynamiczny przejmują nad nią pełną kontrolę. Są zdolne do namnażania się jedynie wewnątrz zaatakowanej komórki, a kiedy namnożą się w tysiącach kopii, zakażona komórka gospodarza pęka, uwalniając nowo wytworzone przez siebie kopie wirusa. Przedstawiony mechanizm realizowany jest, kiedy komórki gospodarza są wrażliwe na infekcje wirusowe. Na powierzchni wszystkich wirusów występują charakterystyczne substancje tzw. białka powierzchniowe (antygeny), które mogą być rozpoznawane przez komórki odpornościowe gospodarza; jeśli komórki odpornościowe mają zdolność do mechanizmów obronnych (Biologia, C.A. Villee, E. Solomon, L. Berg, D. Martin, wyd. Multico).

Choroby zakaźne, zwłaszcza zakażenia szpitalne (tj. grypa, zapalenia płuc, infekcje lekoopornymi szczepami gronkowca złocistego, norowirus, ostry zespół koronawirusowy ciężkiego zespołu oddechowego itp.), okresowo powodują powszechne ogniska chorobowe i stanowią poważne zagrożenie dla zdrowia publicznego (Memoli i in., 2008, Lindsay i in., 2015). Wirus grypy, rinowirus i syncytialny wirus oddechowy (RVS) i koronawirus odgrywają główną rolę w zakażeniach górnych dróg oddechowych (URTI), podczas gdy norowirus i rotawirus są ważnymi przyczynami chorób żołądkowo-jelitowych. W miarę pojawiania się zmian klimatu, w tym globalnego ocieplenia oraz zwiększonego przepływu geograficznego ludzi i towarów wzrosła liczba patogennych wirusów i dotkniętych nimi obszarów (Franchini, 2015). Dlatego ryzyko infekcji wirusowej stało się obecnie kluczowym problemem. Wirusy podlegają bardzo często

zmianom genetycznym takim jak mutacje i rekombinacje. Zmiany w materiale genetycznym wirusa mogą prowadzić do zmian w funkcjonowaniu białek wirusowych, co może spowodować powstanie nowych wirusowych serotypów lub wirusów o zmienionej zjadliwości (Fleischmann, 1996). Fakt ciągłej zmienności genetycznej wirusów i nieustannego ich dostosowywania się do warunków panujących w ustroju gospodarza, a więc nabywania oporności czy mechanizmów omijania lub nawet radzenia sobie z barierami odpornościowymi organizmu, powoduje, iż skuteczność przeciwdziałania i leczenia infekcji wirusowych jest ograniczona. Pojawiające się mutacje wirusa grypy nadal stanowią poważne wyzwanie dla skutecznego przeciwdziałania i leczenia tej choroby (Barik 2012, przyp. red.). Norowirus i rotawirus atakują układ żołądkowo-jelitowy, są wysoce zakaźne i powodują ciężką biegunkę (Santosham i in., 2010). Obecnie nie ma skutecznego leczenia tych infekcji wirusowych, zapobieganie przenoszeniu wirusa opiera się na podstawowych środkach takich jak kwarantanna i dokładne mycie rąk po kontakcie fizycznym. Ogólnie zalecanym leczeniem podczas infekcji wirusowych układu żołądkowo - jelitowego jest zapobieganie odwodnieniu spowodowanemu biegunką i wymiotami poprzez utrzymywanie wystarczającego spożycia płynów i oczekiwanie na usunięcie wirusa z przewodu pokarmowego.

W przypadku ludzi powierzchnie błon śluzowych układu oddechowego oraz przewodu pokarmowego stanowią główne drogi wejścia dla większości zakaźnych wirusów. Najważniejszymi mechanizmami obrony gospodarza przed infekcjami wirusowymi są wrodzone i adaptacyjne odpowiedzi immunologiczne układu odpornościowego. Odpowiedzi te mogą działać bezpośrednio na wirusa lub pośrednio na powstawanie kopii wirusa poprzez zmianę bądź zabicie zainfekowanej komórki. Odpowiedzi wrodzone obejmują bariery fizyczne, chemiczne, mikrobiologiczne oraz wiele elementów układu odpornościowego tj. komórki odpornościowe, a dokładnie monocyty, makrofagi, komórki NK (tzw. „Naturalni zabójcy”). Odpowiedzi adaptacyjne są wysoce specyficzne, ale ich aktywacja wymaga kilku dni lub tygodni. W zakażeniach wirusowych odpowiedzi adaptacyjne zależą głównie od cytotoksycznych komórek T i przeciwciał, odgrywających zasadniczą rolę w odpowiedzi odpornościowej i pamięci

komórkowej przeciwko patogenom wewnątrzkomórkowym, takim jak wirusy czy komórki nowotworowe (Lehtoranta, 2012).

Doniesienia naukowe dostarczają coraz więcej dowodów świadczących o wpływie odżywiania na mikrobiom człowieka, który wchodząc w interakcje z układem odpornościowym może wpływać na kształtowanie się odporności człowieka na infekcje. Probiotyki mogą wywoływać działanie plejotropowe w tym działanie przeciwdrobnoustrojowe poprzez konkutowanie z lokalnymi patogenami i pośrednio przez wzmocnienie funkcji bariery jelitowej (Hart i in., 2009). Ponadto probiotyki mają zdolność modulowania układowy i lokalny układ odpornościowy śluzówki (Hörmannspenger i Haller, 2010). Bakterie probiotyczne są stosowane w zapobieganiu oraz leczeniu wielu chorób takich jak wrzodziejące zapalenie jelita grubego (bakterioterapia kałowa – przeszczepianie mikroflory od zdrowego pacjenta) (Borody i in., 2004), biegunki wywołane antybiotykoterapią czy też choroba zapalna jelit występująca w wyniku leczenia chirurgicznego (Guarner i in., 2008).

Liczne badania potwierdzają pozytywne oddziaływanie probiotyków w walce z infekcjami wirusowymi, jednak podstawowe mechanizmy działania nie zostały do tej pory w pełni poznane. Jako możliwe mechanizmy przeciwwirusowe indukowane przez probiotyki wymienia się: utrudnianie adsorpcji komórek wirusa do komórek gospodarza, internalizację komórek wirusa, wytwarzanie metabolitów i substancji o bezpośrednim działaniu przeciwwirusowym (tj. kwasy organiczne, nadtlenek wodoru, diacetyl, krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe, biosurfaktanty i bakteriocyny (Servin, 2004)) oraz indukowanie odpowiedzi immunologicznej organizmu (Lehtoranta, 2012). Badania eksperymentalne *in vitro* pokazują, że niektóre szczepy probiotyków są w stanie zapewnić ochronę przed infekcjami wirusowymi poprzez aktywację cytokin i chemokin odpowiedzialnych za wzrost i pobudzenie komórek biorących udział w odpowiedzi odpornościowej organizmu. Probiotyki mogą stymulować wzrost i akcję monocytów w krwi (PBMC), których aktywność prowadzi do poprawy biomarkerów odpornościowych. W studium doświadczalnym z 2015 roku, podawana kombinacja szczepów *Lactobacillus salivarius* oraz *Bifidobacterium breve* obniżały poziom wydzielanych, prozapalnych cytokin (Drago i wsp. 2015). Prace nad

sposobem oddziaływania probiotyków na infekcje wirusowe układu pokarmowego wykazują, iż kolejnym z możliwych mechanizmów działania probiotyków jest promowanie bariery obronnej jelit poprzez normalizację zwiększonej przepuszczalności i zaburzonej mikroflory jelit (Isolauri i in., 1993, Otte i Podolsky, 2004). Podczas infekcji wirusowych przewodu pokarmowego, wirusy przyłączają się do receptorów komórkowych i modyfikują ciasne połączenia na błonie podstawno-bocznej, zaburzając tym samym barierę ochronną jelit (Guttman i Finlay, 2009). Badania prowadzone przez różne zespoły badawcze na przestrzeni lat dotyczące wpływu *Lactobacillus rhamnosus GG* na zapalenie żołądka i jelit wywołane rotawirusem u niemowląt i dzieci wykazały, że stosowanie *Lactobacillus rhamnosus GG* jest w stanie skrócić czas trwania biegunki wywołanej przez rotawirusa (Isolauri i in., 1991, Kaila i in., 1992, Isolauri i in., 1994, Majamaa i in., 1995, Guarino i in., 1997, Shornikova i in., 1997c, Guandalini i in., 2000).

Bardzo istotny w dzisiejszych czasach jest fakt, iż doniesienia naukowe wskazują, że stymulacja reakcji obronnych może odbywać się w komórkach nabłonkowych układu żołądkowo-jelitowego, ale również w komórkach nabłonkowych układu oddechowego. Istnieją wskazania, iż stosowanie probiotyków może modulować odpowiedź immunologiczną w płucach (Noverr i Huffnagle, 2005), poprzez mikrobiologiczną stymulację jelit polegającą na zwiększeniu odpowiedzi regulacyjnej cytotoksycznych komórek T w drogach oddechowych (Sudo i in., 2002). Dowiedziono, iż doustne podanie pałeczek kwasu mlekowego myszom wpływa (w badaniach wykorzystywano m.in. *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus GG*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuterii*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus fermentum*) na infekcje wirusowe układu oddechowego (takie jak grypa) poprzez zmniejszenie miana (ilości) wirusa w płucach i zwiększenie przeżywalności zwierząt poprzez stymulowanie wrodzonych odpowiedzi immunologicznych. Istnieją również dowody na to, że donosowe podawanie probiotyków jest w stanie chronić przed zakażeniem wirusem układu oddechowego poprzez stymulowanie wrodzonych odpowiedzi immunologicznych bezpośrednio w nabłonku oddechowym (Hori i in., 2001, Harata i in., 2010, Izumo i in., 2010, Harata i in., 2011, Gabryszewski i in.,

2011, Youn i in., 2012, Jung i wsp. 2017, Park i wsp. 2018). Prace przeprowadzone z użyciem bakterii probiotycznych *Bifidobacterium animalis*, *Lactobacillus paracasei* oraz *Lactobacillus casei* również wykazały wzmożenie działania układu odpornościowego podczas infekcji wirusem grypy cechujące się znacznie większym wzrostem przeciwciał IgG swoistych dla wirusa grypy w osoczu i wydzielniczej IgA w ślinie (Rizzardini i in., 2012). Inne badania na myszach koncentrujące się wokół szczepu *Bacillus subtilis* wykazały, że bakteria ta produkuje nowy, przeciwdrobnoustrojowy peptyd zwany P18. Peptyd ten działał ochronnie na komórki płuc nie dopuszczając do inwazji wirusa grypy a nawet hamując rozwój i namnażanie się wirusa przy wyższych jego stężeniach (Starosila i wsp. 2017). Do zestawu aktywnych szczepów probiotycznych można włączyć również *Bifidobacterium bifidum* bowiem badania z 2019 r potwierdziły duży potencjał tego szczepu w stymulowaniu odpowiedzi immunologicznej i zbalansowanym indukowaniu aktywności limfocytów typu Th1/Th2 przeciwko infekcji grypy w modelu opartym na myszach. Dużym sukcesem był wzrost przeżywalności myszy objętych terapią (Mahooti i wsp. 2019).

Badania na zwierzętach oraz badania kliniczne przeprowadzone na Uniwersytecie w Helsinkach dotyczące wpływu *Lactobacillus rhamnosus GG* na infekcje wirusowe dróg oddechowych oraz przewodu pokarmowego wykazały, że podawanie inaktywowanej (nieżywej) formy *L. rhamnosus GG* noworodkowemu modelowi szczura wpływa na ograniczenie spadku masy ciała oraz wzrost masy okrężnicy. Natomiast żywa forma *L. rhamnosus GG* była bardziej skuteczna w zmniejszaniu ilości wirusa w przewodzie pokarmowym. Oceniono również wpływ podawania *L. rhamnosus GG* lub kombinacji probiotycznej zawierającej *L. rhamnosus GG* na występowanie infekcji wirusowych dróg oddechowych z udziałem dzieci w tym również dzieci ze skłonnością do zapalenia ucha. Dzieci otrzymujące probiotyk chorowały krócej, jednak występowanie wirusa w nosogardzieli nie zmieniła się co sugeruje, że *L. rhamnosus GG* jest w stanie zmniejszyć objawy wirusa oddechowego poprzez wzmocnienie odpowiedzi immunologicznej organizmu. Natomiast u dzieci ze skłonnością do zapalenia ucha *L. rhamnosus GG* w połączeniu z *L. rhamnosus Lc705*, *Bifidobacterium breve 99*

i *Propionibacterium freudenreichii ssp. Shermanii* JS znacznie zmniejszył ilość wirusa w nosogardzieli (Lehtoranta, 2012).

Badania przeprowadzone przez dr. Sang - Moo Kang, profesora w Instytucie Nauk Biomedycznych w stanie Georgia dotyczące wpływu inaktywowanego ciepłym szczepu bakterii kwasu mlekowego *Lactobacillus casei* DK128 (szczep wyizolowany ze sfermentowanych warzyw) na wirusa grypy dały bardzo pozytywne rezultaty. U myszy, którym podawano donosowo inaktywowany szczep i zakażano następnie wirusem grypy A zaobserwowano odpowiedzi skorelowane z ochroną przed wirusem grypy w tym: wzrost pęcherzyków komórek makrofagów w płucach i drogach oddechowych, wczesną indukcję przeciwciał swoistych dla wirusa oraz obniżone poziomy cytokin prozapalnych. Myszy rozwinęły również odporność na wtórne zakażenie wirusem innymi podtypami wirusa. Donosowa aplikacja *Lactobacillus casei* DK128 zapobiegła utracie wagi przez myszy oraz wpłynęła na ich 100% przeżycie. Co więcej naukowcy po aplikacji inaktywowanego szczepu zainfekowali myszy śmiertelną dawką wirusa grypy A, podtyp H3N2 lub H1N1. W tym wariacie myszy wstępnie leczone niską dawką DK128 wykazały od 10-12% utraty wagi, ale przeżyły; myszy traktowane większą dawką zabitych ciepłym bakterii nie wykazały utraty wagi. Natomiast myszy kontrolne, które nie były wcześniej traktowane *Lactobacillus casei* DK128 wykazały znaczną utratę masy ciała i w 8-9 dniu infekcji wszystkie myszy zmarły (Georgia State University, 2017).

Aktualny stan wiedzy dotyczący oddziaływania probiotyków względem infekcji wirusowych wskazuje, iż probiotyki wydają się być korzystne w chorobach układu pokarmowego oraz oddechowego wywołanych przez pewne wirusy, jednak wpływ probiotyków na te drobnoustroje nie został jeszcze dostatecznie poznany. Jednocześnie jest to przestrzeń bardzo dynamiczna, rozwojowa, to dziedzina nieustannie poszerzająca się i nieprzerwalnie zgłębianą przez naukowców z całego świata. Doniesienia naukowe wskazują, że probiotyki odgrywają istotną rolę w stymulowaniu odporności jelitowej człowieka co ma bezpośrednie przełożenie życie i zdrowie każdego z nas. Przytoczone badania świadczą o wysoce specyficznym działaniu probiotyków przy infekcjach wirusowych w zależności od szczepu lub ich kombinacji. Wykazano również, że

właściwości probiotyczne szczepów mogą się zmieniać w procesach produkcyjnych, a efektywność ich działania może być zależna od rodzaju diety i przyjmowanych pokarmów (Grześkowiak i in., 2011). Przeanalizowane doniesienia naukowe wskazują, iż pozytywne oddziaływanie probiotyków w infekcjach wirusowych opiera się w głównej mierze na mobilizacji, wspieraniu i wzmacnianiu reakcji układu odpornościowego. Zdrowie immunologiczne jest jednym ze sposobów wzmocnienia obrony przed infekcjami wirusowymi. Prawidłowa stymulacja odporności stanowi jeden ze sposobów zapobiegania infekcjom wirusowym.

Piśmiennictwo:

Barik S. New treatments for influenza. *BMC Med.* 2012;10:104.

Borody T.J, E. F. Warren, S. M. Leis, R. Surace, O. Ashman, and S. Siarakas, "Bacteriotherapy using fecal flora: toying with human motions," *Journal of Clinical Gastroenterology*, vol. 38, no. 6, pp. 475–483, 2004.

Dennehy P.H. Effects of vaccine on rotavirus disease in the pediatric population. *Curr. Opin. Pediatr.* 2012;24:76–84.

Drago L., De Vecchi E., Gabrieli A., De Grandi R., Toscano M. Immunomodulatory Effects of *Lactobacillus salivarius* LS01 and *Bifidobacterium breve* BR03, Alone and in Combination, on Peripheral Blood Mononuclear Cells of Allergic Asthmatics. *Allergy Asthma Immunol Res.* 2015 Jul;7(4):409-13. doi: 10.4168/aaair.2015.7.4.409. Epub 2015 Mar 5.

Fleischmann W.R.: *Medical Microbiology*. 4th edition. Chapter 43 Viral Genetics, 1996.

Franchini M., Mannucci P.M. Impact on human health of climate changes. *Eur. J. Intern. Med.* 2015;26:1–5.

Gabryszewski SJ, Bachar O, Dyer KD, Percopo CM, Killoran KE, Domachowske JB, Rosenberg HF. *Lactobacillus*-mediated priming of the respiratory mucosa protects against lethal pneumovirus infection. *J Immunol* 2011;186:1151-1161.

Georgia State University. "Lactic acid bacteria can protect against influenza a virus." *ScienceDaily*. 13 December 2017. <www.sciencedaily.com/releases/2017/12/171213130328.htm>.

Grześkowiak L, Isolauri E, Salminen S, Gueimonde M. Manufacturing process influences properties of probiotic bacteria. *Br J Nutr* 2011;105:887-894.

Guandalini S, Pensabene L, Zikri MA, Dias JA, Casali LG, Hoekstra H, Kolacek S, Massar K, Micetic-Turk D, Papadopoulou A, de Sousa JS, Sandhu B, Szajewska H, Weizman Z. *Lactobacillus* GG administered in oral rehydration solution to children with acute diarrhea: A multicenter European trial. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2000;30:54-60.

Guarner F., A. Khan, J. Garisch et al., *World Gastroenterology Organisation Practice Guideline: Probiotics and Prebiotics*, WGO, Munich, Germany, 2008.

Guarino A, Berni Canani R, Spagnuolo MI, Albano F, Di Benedetto L. Oral bacterial therapy reduces the duration of symptoms and of viral excretion in children with mild diarrhea. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1997;25:516-519.

Guttman JA and Finlay BB. Tight junctions as targets of infectious agents. *Biochim Biophys Acta Biomembr* 2009;1788:832-841.

Hart S. C. Ng, A. L., Kamm M. A., Stagg A. J. and Knight S. C., "Mechanisms of action of probiotics: recent advances," *Inflammatory Bowel Diseases*, vol. 15, no. 2, pp. 300–310, 2009.

Hori T, Kiyoshima J, Shida K, Yasui H. Effect of intranasal administration of *Lactobacillus casei* Shirota on influenza virus infection of upper respiratory tract in mice. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001;8:593-597.

Hörmannsperger G. and Haller D., "Molecular crosstalk of probiotic bacteria with the intestinal immune system: clinical relevance in the context of inflammatory bowel disease," *International Journal of Medical Microbiology*, vol. 300, no. 1, pp. 63–73, 2010.

[Internet 1]: <http://internationalprobiotics.org/covid-19-a-role-for-probiotics-in-immunity/>

Isolauri E, Juntunen M, Rautanen T, Sillanauke P, Koivula T. A human *Lactobacillus* strain (*Lactobacillus casei* sp strain GG) promotes recovery from acute diarrhea in children. *Pediatrics* 1991;88:90-97.

Isolauri E, Kaila M, Mykkänen H, Ling WH, Salminen S. Oral bacteriotherapy for viral gastroenteritis. *Dig Dis Sci* 1994;39:2595-2600.

Isolauri E, Majamaa H, Arvola T, Rantala I, Virtanen E, Arvilommi H. *Lactobacillus-casei* strain GG reverses increased intestinal permeability induced by cow milk in suckling rats. *Gastroenterology* 1993;105:1643-1650.

Izumo T, Maekawa T, Ida M, Noguchi A, Kitagawa Y, Shibata H, Yasui H, Kiso Y. Effect of intranasal administration of *Lactobacillus pentosus* S-PT84 on influenza virus infection in mice. *Int Immunopharmacol* 2010;10:1101-1106.

Jung YJ., Lee YT., Ngo VL., Cho YH., Ko EJ., Hong SM., Kim KH., Jang JH., Oh JS., Park MK., Kim CH., Sun J., Kang SM.. Heat-killed *Lactobacillus casei* confers broad protection against influenza A virus primary infection and develops heterosubtypic immunity against future secondary infection. *Sci Rep.* 2017 Dec 12;7(1):17360. doi: 10.1038/s41598-017-17487-8.

Kaila M, Isolauri E, Soppi E, Virtanen E, Laine S, Arvilommi H. Enhancement of the circulating antibody secreting cell response in human diarrhea by a human *Lactobacillus* strain. *Pediatr Res* 1992;32:141-144.

Lethoranta L. Academic dissertation: "Probiotics and virus infection: The effects of *Lactobacillus rhamnosus* GG on respiratory and gastrointestinal virus infections", Helsinki, 2012.

Lindsay L., Wolter J., De Coster I., Van Damme P., Verstraeten T. A decade of norovirus disease risk among older adults in upper-middle and high income countries: a systematic review. *BMC Infect. Dis.* 2015;15:425.

Mahooti M., Abdolalipour E., Salehzadeh A., Mohebbi SR., Gorji A., Ghaemi A. Immunomodulatory and prophylactic effects of *Bifidobacterium bifidum* probiotic strain on influenza infection in mice. *World J Microbiol Biotechnol.* 2019 Jun 3;35(6):91. doi: 10.1007/s11274-019-2667-0.

Majamaa H, Isolauri E, Saxelin M, Vesikari T. Lactic-acid bacteria in the treatment of acute rotavirus gastroenteritis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1995;20:333-338.

Memoli M.J., Morens D.M., Taubenberger J.K. Pandemic and seasonal influenza: therapeutic challenges. *Drug Discov. Today.* 2008;13:590-595.

Noverr M. C. and G. Huffnagl B., "The microflora hypothesis of allergic diseases," *Clinical and Experimental Allergy*, vol. 35, no. 12, pp. 1511–1520, 2005.

Otte JM and Podolsky DK. Functional modulation of enterocytes by gram-positive and gram-negative microorganisms. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004;286:G613-G626. *J Pediatr* 2008;153:151-151.

Park S., Kim JI., Bae JY., Yoo K., Kim H., Kim IH., Park MS., Lee I. Effects of heat-killed *Lactobacillus plantarum* against influenza viruses in mice. *J Microbiol.* 2018 Feb;56(2):145-149. doi: 10.1007/s12275-018-7411-1. Epub 2018 Feb 2.

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(R) and *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*, L. *casei* 431(R) in an influenza vaccination model: a randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Br J Nutr* 2012;107:876-884

Santosham M., Chandran A., Fitzwater S., et al. Progress and barriers for the control of diarrhoeal disease. *Lancet.* 2010;376:63–67.

Servin AL. Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against microbial pathogens. *FEMS Microbiol Rev* 2004;28:405-440.

Shornikova A, Casas IA, Mykkänen H, Salo E, Vesikari T. Bacteriotherapy with *Lactobacillus reuteri* in rotavirus gastroenteritis. *Pediatr Infect Dis J* 1997a;16:1103-1107.

Shornikova AV, Casas IA, Isolauri E, Mykkanen H, Vesikari T. *Lactobacillus reuteri* as a therapeutic agent in acute diarrhea in young children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1997b;24:399-404.

Shornikova A, Isolauri E, Burkanova L, Lukovnikova S, Vesikari T. A trial in the Karelian Republic of oral rehydration and *Lactobacillus* GG for treatment of acute diarrhoea. *Acta Paediatr* 1997c;86:460-465.

Starosila D., Rybalko S., Varbanetz L., Ivanskaya N., Sorokulova I.. Anti-influenza Activity of a *Bacillus subtilis* Probiotic Strain. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017 Jun 27;61(7). pii: e00539-17. doi: 10.1128/AAC.00539-17. Print 2017 Jul.

Sudo N., X. N. Yu, Y. Aiba et al. "An oral introduction of intestinal bacteria prevents the development of a long-term Th2-skewed immunological memory induced by neonatal antibiotic treatment in mice," *Clinical and Experimental Allergy*, vol. 32, no. 7, pp. 1112–1116, 2002.

Youn H, Lee D, Lee Y, Park J, Yuk S, Yang S, Lee HJ, Woo SH, Kim HM, Lee JB, Park SY, Choi IS, Song CS. Intranasal administration of live *Lactobacillus* species facilitates protection against influenza virus infection in mice. *Antiviral Res* 2012;93:138-143.