

Impact of the Gut Microbiota on Vaccine Responses

Sahar Azari¹,
Seyed Davar Siadat^{2,3},
Pooneh Rahimi^{4,5},
Sara Ahmadi Badi⁶,
MohammadReza Aghasadeghi^{7,5},
Golnaz Bahramali^{8,5}

¹ PhD Candidate in Microbiology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

² Professor, Department of Mycobacteriology and Pulmonary Research, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

³ Microbiology Research Center, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

⁴ Associate Professor, Department of Hepatitis and AIDS, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

⁵ Viral Vaccine Research Center, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

⁶ PhD in Microbiology, Microbiology Research Center, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

⁷ Professor, Department of Hepatitis and AIDS, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

⁸ Assistant Professor, Department of Hepatitis and AIDS, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

(Received October 31, 2020 ; Accepted January 23, 2021)

Abstract

Non-responsiveness or poor responsiveness to vaccines are challenging issues in vaccine development, and efforts have been made to find out the potential reasons for these conditions. Intestinal microbiome plays a key role in regulating and development of immune system and the composition and diversity of microbiota in different individuals on the one hand, and the imbalance of intestinal microbial population (Dysbiosis) on the other hand, could be considered as the most effective factors on the human immune system's response to vaccines. Herein, we reviewed studies on the relationships between gut microbiome and immune response to vaccines. It is known that higher relative abundance of Actinobacteria and Firmicutes could induce more effective immune response to vaccines. In contrast, higher relative frequencies of Proteobacteria and Bacteroidetes are reported in weak immune response to vaccines. There is a strong interaction between the development of immune system and the composition of microbiota throughout life, therefore, it is important to determine the best times for examinations and using the most accurate methods, including sequencing the entire genome and Next Generation Sequencing (NGS). However, interpretation of the results of these researches depends on study designs, inclusion/exclusion criteria, timing of sampling according to the time of vaccination, and the methods used in each study. These considerations could lead to more reliable results and provide better understanding on the crosstalk between microbiota and immune response to vaccines, which will consequently improve vaccine efficacy.

Keywords: microbiota, vaccine, response, dysbiosis

J Mazandaran Univ Med Sci 2021; 30 (193): 84-102 (Persian).

* **Corresponding Author:** Pooneh Rahimi - Department of Hepatitis and AIDS, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran (E-mail: pooneh5376@yahoo.com) and Seyed Davar Siadat- Microbiology Research Center, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran (E-mail: d.siadat@gmail.com)

تأثیر میکروبیوتای روده بر پاسخ به واکسن ها

سحر آذری¹
سید داور سیادت^{2,3}
پونه رحیمی^{4,5}
سارا احمدی بادی⁶
محمدرضا آقا صادقی^{5,7}
گلناز بهرامعلی^{5,8}

چکیده

عدم پاسخ‌دهی یا پاسخ‌دهی ضعیف به واکسن‌ها به عنوان چالش برانگیزترین مسئله در تولید واکسن محسوب می‌شود، و چندین مطالعه برای یافتن دلایل بالقوه آن صورت گرفته است. از آن‌جا که میکروبیوم روده نقشی اساسی در تنظیم و توسعه سیستم ایمنی دارد، به نظر می‌رسد ترکیب و تنوع میکروبیوتا در افراد مختلف و از سوی دیگر برهم خوردن تعادل جمعیت میکروبی روده (Dysbiosis)، می‌تواند به عنوان اثرگذارترین فاکتورها بر روی واکنش‌های سیستم ایمنی بدن در پاسخ به واکسن‌های مختلف در نظر گرفته شود. در این مطالعه مروری، مطالعات مربوط به روابط بین میکروبیوم روده و پاسخ ایمنی به واکسن‌ها بررسی شده است.

تاکنون مشخص شده است که فراوانی نسبی بالاتر فایلوم‌های Actinobacteria و Firmicutes می‌تواند پاسخ ایمنی موثرتری را نسبت به واکسن‌ها القاء نماید. در مقابل، فراوانی نسبی بالاتر Bacteroidetes و Proteobacteria در پاسخ‌های ایمنی ضعیف به واکسن‌ها، گزارش شده است. با توجه به تعامل قوی مابین توسعه سیستم ایمنی بدن و ترکیب میکروبیوتا در طول زندگی، تعیین زمان دقیق آزمایش و استفاده از دقیق‌ترین متدها در مطالعات، از جمله تعیین توالی کل ژنوم و تعیین توالی نسل بعد (Next generation sequencing)، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. با این حال، تفسیر نتایج این نوع مطالعات، به تفاوت‌ها در طراحی مطالعه مانند انتخاب معیارهای ورود و خروج داوطلبان به مطالعه، زمان نمونه‌گیری براساس زمان واکسیناسیون و متدهایی که برای بررسی در هر مطالعه بکار گرفته می‌شوند، بستگی دارد. این ملاحظات می‌توانند به نتایجی قابل اتکاءتر و درکی بهتر از تقابل بین میکروبیوتا و پاسخ ایمنی به واکسن‌ها منجر شود، که به نوبه خود به بهبود کارایی واکسن‌ها منتهی خواهد شد.

واژه‌های کلیدی: میکروبیوتا، واکسن، پاسخ، دیس بیوزیس

مقدمه

از بدو تولد، بدن و مجاری گوارشی با جمعیت میکروبی پیچیده و پویایی کلونیزه می‌شوند که میکروبیوتا خوانده می‌شوند. اکثریت آن‌ها در مجاری روده کلونیزه می‌شوند (gut microbiota)، اما میکروارگانیسم‌ها در

E-mail: pooneh5376@yahoo.com

E-mail: d.siadat@gmail.com

مؤلف مسئول: پونه رحیمی - تهران: انستیتو پاستور ایران، بخش هیاتیت و ایدز

سید داور سیادت - تهران: انستیتو پاستور ایران، بخش تحقیقات سل و بیماری‌های ریوی

1. دانشجوی دکتری تخصصی میکروب شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

2. استاد، گروه تحقیقات سل و بیماری‌های ریوی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

3. مرکز تحقیقات میکروب شناسی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

4. دانشیار، گروه هیاتیت و ایدز، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

5. مرکز تحقیقات واکسن‌های ویروسی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

6. مرکز تحقیقات میکروب شناسی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

7. استاد، گروه هیاتیت و ایدز، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

8. استادیار، بخش هیاتیت و ایدز، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: 1399/8/10 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: 1399/10/16 تاریخ تصویب: 1399/11/4

سایر نواحی بدن انسان نیز حضور دارند از جمله پوست، مجاری هوایی و مجاری ادراری تناسلی. واژه human microbiome نیز عموماً به مجموع ژن‌هایی که توسط این میکروارگانیسم‌ها حمل می‌شود اطلاق می‌گردد. در روده انسان، میکروبیوم شامل حدود سه میلیون ژن منحصر بفرد است که بیش تر آن‌ها مربوط به باکتری‌ها است (1). این باکتری‌ها نقشی کلیدی در عملکردهای مختلف بدن از جمله هضم غذا، سنتز ویتامین‌های ضروری و حفاظت علیه مهاجمان و پاتوژنها دارند (2). این اثرات متقابل و دو سویه هستند، ترکیب میکروبیوتا نیز به شدت تحت تاثیر فاکتورهای مختلف مانند قومیت، موقعیت جغرافیایی و خصوصاً شیوه زندگی، خوراک و رژیم غذایی است که سبب تفاوت میکروبیوتای جمعیت‌های مختلف می‌شوند. به عنوان مثال کاهش *Akkermansia muciniphila* با بهم‌ریختگی و اختلالات متابولیکی در چاقی مرتبط دانسته شده است و مشخص شده که دارای پتانسیل فراوانی برای سلامتی از جمله نقش در متابولیسم گلوکز، غلظت چربی خون، و توسعه چربی است. ترکیب میکروبیوتا با BMI و چاقی مرتبط است. اولین گزارش از تفاوت‌های ترکیب میکروبیوتای روده در موارد ایرانی نشان داده است که ارتباط منفی قابل توجهی بین فراوانی *Bifidobacterium* با افزایش BMI وجود دارد و فراوانی آن در افراد لاغر بالاتر است (3). در یک مطالعه بر روی 46 نفر از بانوان چاق غیر دیابتی، هشت هفته اعمال رژیم غذایی کم کالری به علاوه مصرف متفورمین سبب کاهش 4/5 درصدی BMI آنان شد و غلظت انسولین و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر مدفوع کاهش یافت. این اثر با افزایش قابل توجه در نسبت فراوانی *Escherichia* به *Shigella* همبستگی داشت (4).

برهم خوردن تعادل میکروبی روده تحت عنوان دیس‌بیوزیس به‌طور وسیعی مورد توجه قرار گرفته است و به نظر می‌رسد می‌تواند بدن را مستعد بیماری کند. اگرچه، در تعریف چالش برانگیز است زیرا تنوع

میکروبیوتای بین افراد و تنوع میکروبیوتای درون یک فرد که شناخته شده است، تمایزگذاری بین جامعه میکروبی نرمال و غیرنرمال را دشوار می‌کند (5). به‌عنوان مثال در زمان تولد ایجاد تعادل ایمنی به منظور پذیرش و تحمل تجمع و دسته‌بندی میکروب‌ها در نواحی مخاطی تحت تاثیر فاکتورهای تنظیمی مختلفی قرار دارند، اما مشاهده شده است که بروز سطحی از اختلال در تعادل یا دیس‌بیوزیس، سبب جایگزینی شدید لنفوسیت‌های Th1 و سطحی از التهاب می‌گردد که می‌تواند مقدمه برخی بیماری‌ها در دوران بزرگسالی باشد (6).

بیش از 70 درصد میکروبیوتای انسان در مجرای گوارشی سکونت دارند که شامل 10^{13} - 10^{14} باکتری در گرم می‌باشد که با گرادیان افزایشی غلظت، از لومن گاستریک به سمت روده کوچک تا کولون و رکتوم به بیش‌ترین مقدار خود می‌رسند و یک اکوسیستم پویا و چندلایه را می‌سازند (7). ساکنین اولیه روده شامل بی‌هوازی‌های اختیاری مانند *Enterobacter* و *Enterococci* هستند که به دنبال آن‌ها فراوانی نسبی بی‌هوازی‌های مطلق از جمله *Bifidobacterium*، *Bacteroides* و *Clostridium* افزایش می‌یابد (8,9). این که چه باکتری‌هایی به‌ترتیب در مجاری گوارشی جای می‌گیرند به‌شدت تحت تاثیر مواد غذایی است. مثلاً روده کوچک که حاوی اسیدهای آمینه، مونوساکاریدها و دی‌ساکاریدهاست، *Proteobacteria* و *Lactobacillales* فراوان‌ترند. پس از عبور از روده کوچک نیز کربوهیدرات‌ها شامل پلی‌ساکاریدهایی که پروتوباکتريا قادر به هضم آن‌ها نبوده‌اند بسیارند، که *Bacteroides* و *Clostridiales* با آنزیم‌هایی که قادر به شکستن این ترکیبات هستند در این نواحی فراوان‌ترند. متابولیت‌های میکروبیوتا محصولات تخمیری کلیدی هستند (استات، پروپیونات، بوتیرات) در حفظ ثبات یک روده سالم نقش اساسی دارند. پروپیونات بیش‌تر حاصل فعالیت *Bacteroidetes* و بوتیرات بیش‌تر ناشی از *Firmicutes* است (10). فراوانی جمعیت میکروبی در سطوح موکوسی کمی متفاوت است. جنس‌هایی که در

لایه موکوسی فراوان ترند *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Akkermansia* و *Clostridium* می باشند (11).

ویروبیوتا

بخش ویروسی میکروبیوتا (Virobiota) و محتوای ژنتیکی آن‌ها (Virome) (12) بخش مهمی از جمعیت میکروبی است که با پیشرفت تکنیک‌های جدید و مستقل از کشت به آن‌ها پی برده و پرداخته شده است. در بافت‌های سالم انسان مهم ترین و فراوان ترین جمعیت ویروسی باکتریوفاژها هستند که به صورت پروفاژهای لایزوژنیک و فاژهای لایتیک به صورت غیرپاتوژنی به همراه سایر ویروس‌ها در بسیاری از بخش‌های مهم بدن میزبان مانند پوست، حفره دهانی، روده و مجاری ادراری حضور دارند (13). ویروس‌های روده عمدتاً از خانواده‌های *Reoviridae*, *Picornaviridae*, *Astroviridae* و *Caliciviridae* می باشند (14). باکتریوفاژها به واسطه ارتباطی که با باکتری‌های میزبان خود دارند و مخازن ژنتیکی و ماهیت تبادل کننده محتوای ژنتیکی که دارند، احتمالاً در فعالیت‌های ایمنی و بنابراین در پاسخ‌های واکنشی می توانند تاثیر گذار باشند. زیرا از طریق حمل فاکتورهای ویروالانس و ژن‌های مقاومت و فرایند انتقال بر مسیرهای متابولسمی میزبان اثر می گذارند. با وجود دست‌آوردهای گسترده در روش‌های دقیق و حساس آزمایشگاهی به منظور شناسایی باکتریوفاژها به دلیل تنوع بسیار زیاد این دسته از ویروس‌ها، درک تعاملات آن‌ها با سیستم ایمنی میزبان، هنوز نیازمند پیشرفت و نوآوری در روش‌های شناسایی و پژوهش‌های بیش تر به منظور مطالعه این ویروس‌هاست.

تعامل میکروبیوتا و سیستم ایمنی

1- میکروبیوتا بر کارایی واکنش‌ها تاثیر می گذارد در سال‌های اخیر نشان داده شده است که میکروبیوتا می تواند بر پاسخ ایمنی به واکنش‌های اثر بگذارد (15, 16) و تغییراتی که در این جمعیت‌ها اتفاق می افتد می تواند

بر کارایی واکنش‌ها موثر باشد (17). از آن‌جا که از بدو تولد، سیستم ایمنی و جمعیت میکروبی مواری باهم توسعه می یابند، هم چنین زمانبست که بیش تر واکنش‌ها اعمال می گردند، ترکیب میکروبیوتای اولیه می تواند در پاسخ ایمنی به واکنش‌ها به طور بالقوه نقش مهمی ایفا نماید.

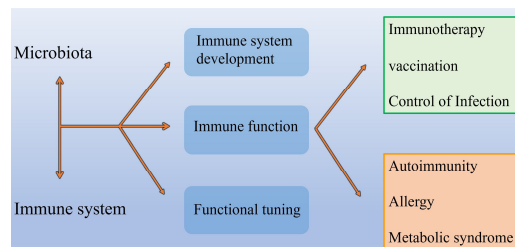
در سال‌های اخیر نقش جمعیت متنوع میکروبی بدن بر تکامل سیستم ایمنی در زمان نوزادی، در پاسخ سیستم ایمنی به واکنش‌ها و پاسخ به داروهای مختلف نظیر داروهای شیمی درمانی شناخته شده است (16, 37-18). مطالعاتی که جهت بررسی دلایل پاسخ‌های ضعیف ایمنی پس از واکنش‌های در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه انجام شده است نشان داده‌اند که فاکتورهای میزبان نظیر ژنتیک، تغذیه و میکروبیوم میزبان و در مرتبه بعد عوامل محیطی و عوامل مربوط به پاتوژن مورد نظر، در این زمینه نقش دارند (15, 23, 42-37). باکتری‌های کامنسال روده در طیف وسیعی از واکنش‌های حیاتی بدن شامل هضم مولکول‌های غذا و ترمیم بافت‌ها نقش دارند و در جهت بقاء خود با ورود و جایگزینی سایر باکتری‌ها مقابله می کنند بدین ترتیب در شکل دهی سیستم ایمنی موضعی در روده و همچنین در پاسخ‌های سیستماتیک ایمنی موثر هستند. بهم خوردن تعادل سلول‌های ایمنی و یا بهم خوردن تعادل جمعیت میکروبی در ایجاد بیماری‌های مختلفی مانند التهاب روده، دیابت، آسم و انواع سرطان‌ها شناخته شده هستند و از این میان سلول‌های $TCD4^+$ با جمعیت زیادی که در روده‌ها دارند از مهم ترین سلول‌های سیستم ایمنی هستند که در برقراری و حفظ هموستاز نقش دارند و به عنوان "هدف" در مطالعه بیماری‌هایی نظیر التهاب روده به شمار می روند که با قابلیت تبدیل به زیرشاخه‌های سلول T مانند $Th1$ و $Th2$ و $Th17$ که هر یک در ایمنی سلولی و ایمنی هومورال نقش دارند، از تنظیم کننده‌های مهم پاسخ‌های ایمنی هستند. اتصال میکروب‌های خاص به دیواره روده و یا آسیب به اپیتلیوم روده آنتی‌ژن‌های میکروبی را در اختیار سلول‌های عرضه کننده آنتی ژن (Antigen presenting cell (APC

بی نظیری برای تقویت ایمنی درمانی، واکسیناسیون و کنترل عفونت ها، فراهم می کند.

2- متابولیت های میکروبی بر تکامل و عملکرد اجزای سیستم ایمنی تاثیر می گذارند

اهمیت شناسایی میکروبیوتا در فعال شدن ایمنی ذاتی به خوبی شناخته شده است و در دهه های اخیر روش های ملکولی براساس بررسی 16s rRNA باکتریایی نقش باکتری ها و متابولیت های آن ها را در پاسخ های ایمنی روشن تر کرده است. اسیدهای چرب کوتاه زنجیر مثل بوتیرات که محصول نهایی تخمیر فیبرهای غذایی در روده است با مهار آنزیم هیستون داستیلاز در ارتقاء عملکرد جمعیت T-regs روده نقش دارند (37,38,43,46). مثال دیگر لاکتوباسیل هستند که با تبدیل اسید آمینه تریتوفان (لیگاند رسپتور AHR) به متابولیت indole-3-aldehyde که لیگاندی است برای رسپتور aryl hydrocarbon receptor (AHR) در تنظیم هموستاز روده نقش دارد (21). رسپتورهای AHR توسط گروه 3 سلول های لنفوییدی ذاتی (ILC3) بیان می شوند و فعال شدن آن ها در اثر اتصال لیگاندی مانند indole-3-aldehyde، به القای بیان IL-22 منجر می شود که در ایمنی مخاط روده در برابر میکروب ها نقش دارد (43,46). به تازگی مشخص شده است که ناتوانی یا ضعف میکروبیوتای روده در تولید لیگاند AHR با بیماری های التهابی روده یا Inflammatory bowel disease (IBD) مرتبط است (۴۷،۲۱). لیپولی ساکارید باکتری ها نیز سیستم ایمنی را از راه القای سیگنالینگ TLR4 و فعال کردن سیستم ایمنی ذاتی با القای بیان سایتوکاین های التهابی و NF-κB، تحت تاثیر قرار می دهند، ولی لیپولی ساکارید در گونه های مختلف میکروبیوتای روده، این سیگنالینگ را به طور متفاوتی تحریک می کند و ممکن است اثرات و نتایج متفاوتی در پی داشته باشد (21,43,46,47). به عنوان مثال پلی ساکارید A (PSA) از باکترئیدس فراژیلیس از طریق گیرنده های TLR2، به طور مستقیم باعث تمایز Treg ها

قرار می دهد و این امر به فعال شدن پاسخ های اختصاصی T-cell می انجامد. مطالعات نشان داده است که انواع مختلفی از سلول های عرضه کننده آنتی ژن در لامینا پروپریای روده مستقر هستند و به افزایش و کاهش باکتری های روده و یا بهم خوردن نسبت آن ها پاسخ می دهند. سلول های لنفوییدی روده یا Intestinal innate lymphoid cells (ILCs) نیز با نگه داری از سد مخاطی در برابر پاتوژن ها بخشی از ایمنی ذاتی هستند که فاقد گیرنده های اختصاصی آنتی ژن بوده اما گیرنده هایی برای سایتوکاین هایی دارند که در آسیب های بافتی ترشح می شوند و بدین ترتیب این سلول ها از طریق گیرنده های خود تغییرات و آسیب ها را شناسایی می کنند و عملکرد ایمنی آن ها در روده ها تحت تاثیر میکروبیوم روده و ترکیب آن قرار دارد (15,23,37-44). در تصویر شماره 1، تکامل سیستم ایمنی با همراهی میکروبیوم و ارتباط دو سویه سیستم ایمنی با باکتری های کامنسال نشان داده شده است. میکروبیوم در توسعه، عملکرد و توازن سیستم ایمنی نقش دارد و این امر یک ارتباط دو سویه است که هر اختلالی در یک طرف، به اختلالات مزمن التهابی، خودایمنی، آلرژی و سندروم های متابولیک منجر می شود. مداخلات انتخابی در میکروبیوم، قابلیت های درمانی را در بیماری های عفونی، درمان تومورها، بهبود نتایج واکسن ها و مقابله با باکتری های مقاوم به آنتی بیوتیک را در اختیار محققین قرار می دهد. خلاصه مطالب فوق به صورت شماتیک در تصویر شماره 1 قابل مشاهده است.



تصویر شماره 1: نقش اساسی میکروبیوتا در القاء، آموزش و عملکرد سیستم ایمنی پستانداران. تعدیل انتخابی میکروبیوتا پتانسیل درمانی

می‌شود و به‌طور غیرمستقیم دندرتیک سل‌ها را فعال می‌کند. نتایج پروژه میکروبیوتا ثابت کرده است که این میکروب‌ها هستند که در شکل‌گیری و تکامل سیستم ایمنی انسان نقش دارند. بنا براین بررسی دقیق و پی‌بردن به عملکرد آن‌ها می‌تواند در ارتقاء و تقویت هدایت شده سیستم ایمنی کاربرد داشته باشد، که تحت عنوان "مهندسی سیستم ایمنی" از طریق "مهندسی میکروبیوم" مورد استقبال محققین قرار گرفته است.

ژنگ و همکاران نشان دادند که باکتری‌های گرم منفی کامنسال روده در شرایط تعادل، پاسخهای IgG سیستمیکی را القا می‌کنند که به حفاظت انسان و موش در برابر عفونتهای ناشی از *E.coli* و *Salmonella enterica* منجر می‌شود (33، 52). میکروبیوتا با تاثیر بر عملکرد سد روده‌ای، بر واکنش سیستم ایمنی در برابر واکنش‌ها تاثیر می‌گذارد. به عنوان مثال در موش‌های فاقد میکروب شده یا Germ-free که تحت تاثیر آنتی‌بیوتیک، فاقد TLR5 بودند، تزریق واکسن 3 ظرفیتی آنفلوآنزا به تولید سطوح پایین IgG و پلاسماسل‌ها منجر شد و پس از تلقیح میکروبیوتا در این موش‌ها، پاسخ‌های ایمنی به سطح محافظت‌کننده برگشت. این درحالیست که مواردی نیز از تاثیرات منفی و کاهنده میکروبیوتا در ایجاد پاسخ ایمنی در برابر آنتی‌ژن‌ها و به ویژه در واکسن‌ها مشاهده شده است. دلیل این امر مشابهت آنتی‌ژن‌های واکسن به آنتی‌ژن‌های باکتری‌های کامنسال است (32، 33، 52، ۴۲-55، 48). مثال این تاثیر کاهنده در تحقیقات واکسن HIV که دارای اپی‌توپ‌های منشاء گرفته از پوشش ویروس بودند، اثبات شده که در آن تشابه آنتی‌ژن‌های پوشش ویروس با آنتی‌ژن‌های باکتری‌های کامنسال مانع از تحریک مناسب سیستم ایمنی و تولید آنتی‌بادی‌های موثر در برابر ویروس می‌شود (۵۴، ۵۳). از سوی دیگر بررسی‌ها نشان داد که جمعیت برخی باکتری‌های کامنسال روده مانند *Bifidobacterium* با القای تولید sIgA در بزاق و مخاط، در القای پاسخ ایمنی کارآمد در برابر واکسن‌های خوراکی نقش دارند (57-55). همچنین میزان فراوانی

Bacteroides fragilis با تولید سایتوکاین‌های التهابی که در اثر تحریک سیستم ایمنی به‌وسیله لیپوپلی ساکاریدهای باکتری‌ها تولید می‌شوند، نظیر CCL-4 و IL-6 رابطه معکوس دارد (56). هرچند مکانیسم دقیق این تاثیرات شناخته شده نیست اما نظرات مختلفی در این رابطه مطرح شده که از پراستنادترین آن‌ها می‌توان به 2 فرضیه زیر اشاره کرد: در نظریه نخست تاثیر میکروبیوتا از طریق متابولیت‌های مترشحه از باکتری‌ها در گردش خون و تحریک سلول‌های سیستم ایمنی رخ می‌دهد و در نظریه دوم مهاجرت لنفوسیت‌های روده (لامینا پروپریا) که توسط این متابولیت‌ها فعال شده اند، اثرات را اعمال می‌کنند (32، 33، 41، 49، 50). از آن‌جا که تنوع جمعیت باکتریایی و همچنین نسبت خانواده‌های میکروبی منجر به برهمکنش این خانواده‌ها با یکدیگر می‌شوند و پیامد آن را نیز به‌شدت تحت تاثیر قرار می‌دهند، سنجش کمی میکروبیوم از اهمیت خاصی برخوردار است تا به تفسیر نتایج آن کمک کند (32-25). به‌طورکلی ترکیب میکروبیوم روده با سایتوکاین‌های التهابی در ارتباط است.

نتایج مطالعات انجام شده بر روی رابطه الگوهای مختلف میکروبیوتا و پاسخ‌های سیستم ایمنی

1- تاثیر الگوی میکروبیوتا بر چرخه انتقال علائم (سیگنالینگ) پاسخ به واکسن‌ها

در پاسخ به واکسن، مطالعات نشان می‌دهند که انسان‌هایی با جامعه باکتریایی متنوع‌تر و پیچیده‌تر، به واکسن‌ها بهتر پاسخ می‌دهند. تحقیقات Fadrosch و همکاران در سال 2013 نشان داد که حضور راسته Clostridiales و خانواده‌های Lachnospiraceae و Ruminococcaceae، سبب پاسخ بهتر به واکسن‌ها بوده‌اند. مکانیسم این بهبود پاسخ، از راه ایجاد پاسخ‌های ایمنی مولتی‌فازیک توسط میکروبیوتا معرفی شده است. همچنین میکروبیوم به عنوان بهترین یاور (ادجوانت) طبیعی در آموزش و ارتقاء سیستم ایمنی شناخته شده است (16، 38، ۲۴، ۲۳-31). بررسی مطالعات مرتبط نشان

نشان دهند. این اثرگذاری بر عملکرد ایمنی احتمالا به واسطه تاژک آن‌ها و از راه القای سیگنالینگ TLR5 صورت گرفته است، که این خود بر ماکروفاژها اثر گذاشته و همچنین سبب تمایز پلاسماسل‌ها و ارتقاء پاسخ‌های Th1 می‌گردد (43). تنوع میکروبیوتا در یک فرد، به ظاهر تحت تاثیر عوامل متعددی نظیر تغییر در عادات غذایی به نظر می‌رسد، اما تحقیقات پروژه میکروبیوم نشان داده است که یک سوم جمعیت باکتری‌های دستگاه گوارش در یک فرد همواره ثابت است، که این موضوع اساس مطالعات میکروبیوتا و مقایسه تنوع و نسبت جمعیتی باکتریایی در این مطالعات است (24, 26, 29, 32, 41, 43, 55, 56, 59). مطالعات مختلفی شواهدی مبنی بر اثرگذاری میکروبیوتا بر پاسخ ایمنی به واکسن‌ها ارائه کرده‌اند که به آن‌ها و نتایج حاصله اشاره خواهد شد.

2- تاثیر الگوی میکروبیوتا بر پاسخ به واکسن‌های خوراکی و تزریقی

در بررسی واکسن‌های عضلانی، 20 نوزاد در فرانسه با واکسن پنج‌گانه diphtheria- tetanus- acellular pertussis-inactivated poliomyelitis-Haemophilus influenzae type b واکسینه شدند و سطح IgA اختصاصی پولیو در مدفوع آن‌ها بررسی شد. در زمان سومین دوز واکسن مصادف با چهارماهگی، در مدفوع نوزادانی که سطح بالاتری از IgA را در نمونه‌های مدفوع داشتند، مقادیر قابل توجهی از بیفیدوباکتریوم لانگوم و زیرگونه اینفنتیس یافت شد (62). Levine و همکاران میکروبیوتا را در کودکان کشورهای کم‌درآمد و پردرآمد مقایسه کردند و به این منظور از واکسن زنده کلرا سویه CVD 103-HgR استفاده شد. این مطالعه نشان داد که رشد بیش از اندازه باکتری‌های روده کوچک (small bowel bacterial overgrowth) SBBO می‌تواند پاسخ ایمنی به واکسیناسیون با واکسن Cholera CVD 103-HgR را گُند نماید (63). مطالعه دیگری در سال 2013 مشخص کرد که تنوع بالای میکروبیوتا در میمون

داده‌اند که حضور بالاتر فایلوم Actinobacteria در واکسن‌های خوراکی و تزریقی و جمعیت Firmicutes در واکسن‌های خوراکی، با پاسخ‌های ایمنی هومورال و سلولی بالاتری همراه بوده است. در حالی که وجود جمعیت بیش‌تری از فیلوم Proteobacteria در واکسن‌های خوراکی و تزریقی و Bacteroidetes در واکسن‌های خوراکی با پاسخ ایمنی ضعیف‌تری همراه بوده است (15). مطالعه‌ای در بنگلادش در 2014، با بررسی تاثیر میکروبیوم روده در پاسخ به واکسن در نوزادانی که در برابر پولیو، تتانوس، BCG و هپاتیت بی واکسینه شده بودند نشان داد که فراوانی نسبی فایلوم Actinobacteria جنس‌های Bifidobacterium و Corynebacterium با پاسخ بهتر T-cell به واکسن تتانوس و راسته Actinomycetales با پاسخ‌های هومورال در ارتباط هستند و همچنین در ارتباط به پاسخ به واکسن هپاتیت بی در نوزادان، Rothia به‌طور مشخص و معنی‌داری از نظر آماری با سطح بالاتری از پاسخ ایمنی هومورال از کلاس IgG در برابر این واکسن همراه بود، در عین حال Pseudomonadales و Enterobacteriaceae با کاهش پاسخ به این واکسن همراه بود (23). اثر مهارى انتروباکتریاسه‌ها بر سلول‌های TCD4⁺ شناخته شده است و از آن‌جا که پاسخ‌های سیستم ایمنی هومورال پس از تزریق واکسن هپاتیت بی از اهمیت خاصی برخوردار است و این سلول‌ها در القای پاسخ ایمنی هومورال نقش دارند، لذا مهار فعالیت آن‌ها توسط انتروباکتریاسه‌ها، تاثیر منفی این دسته از باکتری‌ها را بر پاسخ به واکسن هپاتیت بی توضیح می‌دهد (23). به‌علاوه، به‌طور کلی فایلوم پروتئوباکتریای خانواده انتروباکتریاسه دارای اثرات منفی بر پاسخ‌های ایمنی هستند و عموماً فراوانی بالاتر آن‌ها با پاسخ‌های ایمنی کم‌تر IgG و T-cell ها نسبت به واکسن‌ها همراه است (16, 23, 24, 33, 34). از سوی دیگر در بررسی برخی سویه‌های E.coli، محققان توانسته‌اند نقش این باکتری را در بهبود و ترمیم پاسخ‌های ایمنی و تولید آنتی‌بادی،

macaque محافظت بهتری را به دنبال اعمال واکسن خوراکی زنده ضعیف شده شیگلا دیسانتری باعث می‌گردد. جامعه مورد بررسی این محققین در این مطالعه NHP (*Cynomolgus macaques*) بود (62).

از محدود مطالعاتی که در این زمینه بر روی بالغین انجام شده است، مطالعه ایست در سال 2013 در حیطة پاسخ به واکسن خوراکی سالمونلا تایفی Ty21a که بر روی داوطلبین بالغ صورت گرفت. این واکسن به صورت زنده ضعیف شده و به صورت خوراکی اعمال می‌گردد. این محققان دریافتند که تفاوت‌های ترکیب میکروبی یا ثبات موقتی آن که در بین افراد مشاهده می‌شود، سبب بروز پاسخ‌های سلولی مولتی فازیک گردید. آنان دریافتند که افرادی که پاسخ‌های سلولی مولتی فازیک داشتند دارای تفاوت یا ثبات موقتی در ترکیب میکروبی بودند، اما در افرادی که قادر بودند پاسخ همورال مثبتی به واکسن بدهند، این تفاوت مشاهده نشد. در این مطالعه که بر روی 17 فرد بالغ در US انجام گرفت. پاسخ ایمنی به واکسن خوراکی سالمونلا تایفی از یک هفته قبل از واکسیناسیون، تا 2 ماه پس از آن، بررسی شد. اندازه‌گیری‌ها در دوماه اعمال واکسن صورت گرفتند و شامل اندازه‌گیری سطح ایمنوگلوبولین‌های IgA و IgG اختصاصی تیفوئید در سرم بودند. این بررسی نشان داد که بروز پاسخ‌های ایمنی با واسطه سلولی مولتی فازیک با جمعیت‌های باکتریایی پیچیده‌تر و متنوع‌تر در افراد (اکثرا شامل راسته کلستریدیالس و غالبا خانواده‌های Lachnospiraceae و Ruminococcaceae) همراه بوده است، که این امر با پاسخ‌های بهتر افراد به واکسن خوراکی سالمونلا تایفی همبستگی داشت. با این وجود، این مطالعه هیچ تفاوت معناداری در تنوع کلی در بین ریسپاندرها و نان-ریسپاندرها گزارش نکرده است (65).

مطالعه بر روی موش‌ها نشان داد که بیان اولیه یا زود هنگام TLR5 با میزان پاسخ آنتی‌بادی دارای همبستگی است. طبق مشاهدات محققان مشخص شد که پاسخ‌های آنتی‌بادی به واکسن‌های

OPV و TIV (Inactivated influenza vaccine) (Oral Polio virus) در موش‌های میکروب زدایی شده یا Germ free (GF) و یا موش‌هایی که در معرض آنتی‌بیوتیک بودند، مختل و ضعیف بود. جالب تر آن که این محققان دریافتند که می‌توان پاسخ مناسب به این واکسن‌ها را توسط تجویز خوراکی سویه فلاژل داری از *E. coli* بازیابی نمود (43).

مطالعه‌ای در سال 2014 بر روی ارتباط میکروبیوتا با پاسخ به واکسن‌های OPV و BCG و HBV (Hepatitis B virus) و TT (tetanus toxoid) توسط Huda و همکاران صورت پذیرفت. این محققان از نوزادان بنگلادشی به عنوان جامعه میزبان استفاده نمودند. در این مطالعه فراوانی نسبی بالای فایلوم Actinobacteria و به خصوص *Bifidobacterium* توانست پاسخ را به طور قابل توجهی نسبت به واکسن‌های هم خوراکی و هم تزریقی در نوزادان ارتقاء بخشد. آنان دریافتند که پاسخ‌گویی به واکسن می‌تواند با القای *Bifidobacteria* در روده ارتقاء یابد. به علاوه، بهبود پاسخگویی به واکسن در صورتی که بتوان برهم خوردن تعادل یا همان dysbiosis را نیز در دوران نوزادی به حداقل رسانید قابل مشاهده خواهد بود. در حیطة واکسن‌های خوراکی 48 نوزاد بنگلادشی آزمایش شدند و یافته‌ها به این صورت بود که در پاسخ به واکسن خوراکی پولیو، نوزادانی که پاسخ T-cell اختصاصی پولیو ویروس و همچنین سطح بالاتری از IgG سرمی اختصاصی در یک زمان معین (یک هفته بعد از دوز چهارم واکسن) بروز دادند، دارای فراوانی نسبی بالاتری از خانواده‌های Coriobacteriaceae و Bifidobacteriaceae، گونه *B. longum* (زیرگونه *infantis* و *longum*) از فایلوم Actinobacteria بودند. این درحالیست که نوزادانی که پاسخ T-cell و سطح IgG سرمی اختصاصی پولیو را در سطح ضعیفی بروز دادند، دارای فراوانی نسبی بالاتری از راسته Pseudomonadales بودند و این ارتباط منفی گزارش شد. در ادامه

این بررسی محققان به مطالعه واکسن تزریقی tetanus-hepatitis B و پاسخ های T-cell اختصاصی تتانوس و هپاتیت B در سن 15 هفتگی نوزادان پرداخته و نشان دادند که نوزادان دارای پاسخ بالاتر T-cell اختصاصی تتانوس با فراوانی نسبی بالاتری در جنس *Bifidobacterium* و جنس *Corynebacterium* مصادف است، حال آن که از فایلوم مربوطه (Actinobacteria) تنها راسته Actinomycetales با پاسخ همورال بالاتر و سطح بالاتر IgG اختصاصی تتانوس ارتباط مثبت داشت و این ارتباط مثبت در پاسخ همورال، مربوط به جنس *Bifidobacterium* واکسن هپاتیت B بود. در پاسخ سلولی به واکسن هپاتیت B ارتباطی با ترکیب میکروبیوم روده یافت نشد. لکن فراوانی نسبی بالاتر جنس *Rothia* با سطح بالاتر IgG سرمی اختصاصی هپاتیت B مصادف بود. هم چنین علاوه بر تنوع باکتریایی بالاتر در ترکیب میکروبیوم، فراوانی نسبی بالاتر در راسته Enterobacteriales نیز با پاسخ های T-cell اختصاصی پایین تر به تتانوس نیز همبستگی داشت. همین طور در مورد راسته Pseudomonadales فراوانی نسبی بالاتر، با پاسخ های ضعیف تر T-cell اختصاصی تتانوس و هپاتیت B مصادف بود. در همین مطالعه Huda و همکاران ارتباط بین پاسخ به واکسن BCG را نیز با ترکیب میکروبیوم روده بررسی کردند. نوزادان با واکسن فوق واکسینه شده و در 15 هفتگی ارتباط میکروبیوم روده با پاسخ به این واکسن بررسی شد. در این مطالعه مشخص شد که پاسخ ایمنی سلولی بالاتر به آنتی ژن PPD (Purified protein derivative) با فراوانی بالاتر *B. longum* زیر گونه *infantis* از فایلوم Actinobacteria و همچنین پاسخ های تست پوستی PPD با فراوانی بالاتر جنس *Rothia* از راسته Actinomycetales ارتباط مثبت دارد. جالب آن که هم چنان، فراوانی نسبی بالاتر راسته Pseudomonadales با پاسخ T-cell اختصاصی پایین تر به PPD و همچنین فراوانی نسبی بالاتر راسته Enterobacteriales با پاسخ های پایین تر با تست پوستی PPD مرتبط بود (23).

در مطالعه ای بر روی میکروبیوم روده نوزادان در غنا در سال 2016 توسط Harris و همکاران صورت پذیرفت، 39 نوزاد در پاسخ به واکسن خوراکی روتاویروس پاسخ دهنده و 39 نوزاد پاسخ نداده، از نظر میکروبیوم روده در نمونه مدفوع مقایسه شدند. پاسخ دادن به این واکسن به معنای تیترا بالاتر از 20 IU/ml است. این بررسی نشان داد که پاسخ دهنده ها فراوانی نسبی پایین تری در فایلوم Bacteroidetes و فراوانی نسبی بالاتری در *Streptococcus gallolyticus* داشته و نسبت Enterobacteria به *Bacteroides* بالاتری را نیز نشان دادند. ولی در این مطالعه تفاوتی در تنوع میکروبیوم روده ای کلی بین پاسخ داده ها و پاسخ نداده ها یافت نشد (62). Harris و همکاران در سال 2017 نیز اقدام به بررسی ارتباط ترکیب میکروبیوم، با پاسخ گویی به واکسن RV (روتاویروس) نمودند. واکسن روتاویروس (RVV) واکسن خوراکی است که به فرم زنده ضعیف شده اعمال می گردد. این مطالعه بر روی نوزادان سالم در کشور غنا انجام گرفت و نشان داده شد که مابین ترکیب میکروبیوم روده با ایمنی زایی واکسن RV خوراکی، همبستگی وجود دارد. آن ها نتیجه گرفتند که احتمالاً این امر می تواند توجیه کننده پاسخ های ایمنی تقلیل یافته در کشورهای در حال توسعه باشد (65). مطالعه دیگری که به بررسی ارتباط میکروبیوم با پاسخ به واکسن روتاویروس پرداخت در سال 2018 توسط Parker و همکاران انجام شد. این گروه نوزادان هندی را به عنوان جامعه میزبان انتخاب و پاسخ به واکسن زنده ضعیف شده روتاویروس را که به صورت خوراکی اعمال می گردد، در آن ها بررسی کردند. با این حال، در این مطالعه هیچ تفاوت قابل توجهی در مجموع جمعیت میکروبی در جمعیت افراد ریسپاندر و نان-ریسپاندر نسبت به واکسن RV یافت نشد. به علاوه، این بررسی اثر مهارتی نسبتاً کمی را که بواسطه استفاده از OPV بر روی کارایی اولین دوز از واکسن RV مشاهده شده بود را نیز گزارش کرده است (68).

بررسی اثر میکروبیوم بر کارایی واکسن زنده ضعیف شده روتاویروس (RVV) یک بار دیگر در سال 2018 توسط Harris و همکاران بررسی شد. این مطالعه که بر روی نوزادان پاکستانی صورت گرفت، سطح بالای فراوانی نسبی باکتری‌های متعلق به کلاسترید یوم‌های cluster XI و پروتوباکتریاهایی که مربوط به *E. coli* و *Serratia* باشند، با پاسخ به واکسن روتاویروس مرتبط دیده شد (69).

واکسن‌های Meningococcal (سروگروپ‌های B و C)، واکسن کونژوگه 13 ظرفیتی pneumococcal و واکسن 6 گانه ترکیبی (بر ضد HBV، دیفتی، کزاز، پرتوسیس، هموفیلوس آنفولانزا تیپ b، ویروس پولیومیلیت) و همچنین BCG بر روی نوزادان موش اعمال شدند. این مطالعه نشان داد که اختلال در پاسخ‌های آنتی‌بادی به واکسیناسیون، ناشی از اثرات منفی و ایجاد دیس بیوزیس حاصل از اعمال آنتی‌بیوتیک‌ها بوده است (60,57,55).

بحث

میکروبیوتای روده با فاکتورهای مختلفی از قبیل موقعیت جغرافیایی، قومیت، سن، فاکتورهای محیطی و ژنتیکی و خصوصاً رژیم غذایی و شیوه زندگی دارای همبستگی است. به عنوان مثال نشان داده شده است که مطابق با نتایج مطالعات دیگر در این زمینه، BMI بالاتر در افراد با فراوانی بالاتر *F. prausnitzii* و بالاتر بودن نسبت فایلم فیرمی کوت به باکترئیدت (F/B ratio) و همچنین با فراوانی پایین‌تر *A. muciniphila* و *Bifidobacterium* ارتباط دارد (3) و رژیم غذایی کم کالری و مصرف متفورمین سبب کاهش BMI و افزایش قابل توجهی در نسبت فراوانی *Escherichia/Shigella* و کاهش غلظت انسولین و همچنین کاهش اسیدهای چرب کوتاه زنجیر در مدفوع می‌شود (4). تعداد مطالعاتی که بر تاثیرگذاری میکروبیوتا بر روی ایمنی تمرکز دارند روز به روز در حال افزایش‌اند. با این حال، در میان مطالعاتی که شرایط آزمایش و کرایتریای ورودی

مطالعه را بخوبی رعایت نموده‌اند، چند مطالعه نتایجی بارزتر ارائه نموده‌اند. متدهای مختلفی برای بررسی‌هایی از این دست و تعیین میکروبیوم روده استفاده شده‌اند؛ از جمله کشت باکتریایی (62) و یا Multiplex PCR برای بیفیدوباکتريا (60,23) و تکنیک‌های پیشرفته‌تری مانند 16s rRNA gene sequencing Roche454 (63) و Human Intestinal Tract Chip (microarray) (62) و یا Illumina MiSeq (60). بررسی پاسخ گویی افراد به واکسن‌های خوراکی و تزریقی (23) و یا هر دو (64,63)، و از سوی دیگر بررسی پاسخ‌های همورال و سلولی در سرم (63,23) و یا پاسخ سرمی (64) یا مدفوعی (60) همورال، در بالا آورده شدند. مطالعاتی که در این مقاله مروری بررسی شده‌اند نشان داده‌اند که میکروبیوم روده بر پاسخ به واکسن‌ها در انسان تاثیر دارند. همچنین بررسی حیوانات مدل نیز این امر را تایید کرده‌اند.

در حیطه مدولاسیون ایمنی، نقش میکروبیوتا در ایمنونومدولاسیون سلول‌های روده مشخص شده است. به عنوان مثال نقش باکترئیدس فراژیلیس و وزیکول‌های غشای خارجی (OMVs) صادره از آن در تعاملات میکروبیوتای روده میزبان خصوصاً در ایمنونومدولاسیون رده سلولی Caco2 به اثبات رسیده (69) و یا اثرات کلیدی *آکرماتسیا موسینیفیل* و اجزایش (EVs) در کاهش التهابات روده ای مشخص شده‌اند (70). در مطالعاتی که بر روی مدل سد اپیتلیالی روده (رده سلولی Caco2) انجام شده است، این رده سلولی با فکالی باکتریوم پراسنیتزی و وزیکول‌های خارج سلولی (EVs) آن مجاور شده و افزایش قابل توجهی در سطح بیان $\text{TNF-}\alpha$ ، IL-4، IL-8، IL-10 و کاهش قابل توجهی در سطح بیان IL-1، IL-2، IL-6، IL-12، IL-17 و $\text{IFN-}\gamma$ در مقایسه با گروه کنترل ($P < 0/05$) مشاهده شد و وزیکول‌های خارج سلولی کارایی بالاتری در کاهش سایتوکاین‌های التهابی و در افزایش سایتوکاین‌های ضد التهابی نشان دادند (71). این مسئله سبب شده است که از فکالی باکتریوم پراسنیتزی با ویژگی‌های ضد التهابی

تایید شده و توانایی تولید بوتیرات و بسیاری دیگر از اسیدهای چرب کوتاه زنجیر، و با مشاهده کاهش فراوانی این باکتری‌ها در مبتلایان به بیماری‌های مختلف، تحت عنوان پروبیوتیک‌های نسل بعد یا Next generation probiotics (NGPs) یاد شود که وزیکول‌های خارج سلولی مشتق از آن قادرند بیان ژن‌های مرتبط با اتصالات محکم (tight junction)‌ها را در سطح mRNA تغییر دهند و اثرات قابل توجهی بر نفوذپذیری روده و بالطبع بر مدولاسیون سیستم ایمنی بگذارند (72).

از سوی دیگر، نقش‌های TLRها در پاسخ‌های واکسنی تا حدودی شناخته شده هستند. به نظر می‌رسد تماس بیش‌تر با میکروب‌ها در کودکی (نواحی جغرافیایی توسعه نیافته)، با بیان بیش‌تری از TLR5 در خون ارتباط دارد (73). اما در مورد TLR4 داده‌ها متناقض بود و نشان داده شد این مواجهه بیش‌تر با میکروب‌ها و عدم رعایت موازین بهداشتی، با تولید سایتوکاین‌های کم‌تر در واکنش به تحریک TLR4 در نوزادان آفریقایی، نسبت به نوزادان اروپایی مصادف بوده است (74). که احتمال دارد همین امر پاسخ به واکسن‌ها را متاثر کند. با این که واکسن آنفولانزا خود TLRs را فعال نمی‌کند، ولی به نظر می‌رسد که این تحریک توسط میکروبیوتای روده و اجزاء یا متابولیت‌هایشان، می‌تواند روشی از مداخله میکروبیوتای روده در ایمنی‌زایی بیش‌تر واکسن آنفولانزا باشد. در موش‌ها دیده شده است که برای تولید آنتی‌بادی پس از اعمال واکسن آنفولانزا، لازم است تا فلاژلین مربوط به میکروبیوتا با واسطه TLR5 شناسایی گردد. این امر به این صورت شفاف‌سازی شد که پاسخ به این واکسن را هم‌زمان بر روی موش‌های germ-free یا موش‌هایی که در آن‌ها نقص TLR5 القاء شده بود و یا موش‌هایی که بر آن‌ها آنتی‌بیوتیک اعمال گردیده بود نیز انجام گرفت و مشاهده شد که این موش‌ها دچار اختلال در پاسخ به واکسن آنفولانزا بودند. جالب آن‌که، این موش‌ها توانایی پاسخ مناسب به این واکسن را پس

از مجاور شدن با میکروبیوتای فلاژل‌دار باز یافتند و آنتی‌بادی‌های مربوطه را تولید نمودند. این امر در حالی بود که اعمال آنتی‌بیوتیک، پاسخ آنتی‌بادی را نسبت به دیگر واکسن‌های آزمایش شده (Yellow fever, tetanus-diphtheria-pertussis) تحت تاثیر قرار نداد (43). در حالی که در انسان نیز بیان TLR5 در خون، با پاسخ همورال به واکسن آنفولانزا، در سال‌ها پیش مرتبط شناخته شده بود (33).

مورامیل دی پپتید که متابولیت تولیدی میکروبیوتا است قادر است در موش PRR متفاوتی به نام Nod2 را تحریک کند که مشخص شده است این امر بر روی پاسخ به واکسن مخاطی Cholera موثر می‌باشد (75). در میمون Macaque به‌عنوان یک حیوان مدل، نیز میکروبیوم روده‌ی متنوع‌تر با ایمنی ارتقاء یافته‌ای نسبت به واکسن شیگلا دیسانتری و مقاومت بالاتر نسب به عفونت با این باکتری مرتبط دیده شد (62).

در برخی مطالعات، بررسی واکنش ایمنی نسبت به چند آنتی‌ژن مورد بررسی قرار گرفت (23). مطالعاتی در سال‌های 2004 و 2014 انجام شد و هر دو بر روی نوزادان انجام گرفت. در مطالعه اول واکسن diphtheria-tetanus-acellular pertussis-inactivated poliomyelitis-Haemophilus influenzae type b مورد استفاده واقع شد و با تکنیک Culture Multiplex PCR for Bifidobacteria مشخص گردید که نوزادان در 16 هفته‌گی دارای سطح قابل توجهی از بیفیدوباکتریوم لانگوم، زیرگونه بیفیدوباکتریوم اینفنتیس بوده و همچنین در مدفوع خود دارای سطح بالاتری از IgA اختصاصی پولیو (P<0/002) بودند (60). مطالعه‌ای دیگر، از واکسن خوراکی پولیو و واکسن عضلانی tetanus-hepatitis B و تست پوستی واکسن BCG استفاده کرد. بررسی‌های این مطالعه با تکنیک 16s rRNA gene sequencing، PCR و V4 Illumina MiSeq اختصاصی بیفیدوباکتریوم و با سه دوره نمونه‌گیری از مدفوع، صورت پذیرفت و نشان داده شد که فراوانی نسبی بالاتر

فایلوم Actinobacteria گونه *B. longum* با سطح بالاتر پاسخ‌های T-cell اختصاصی تتانوس و پولیو و BCG، و با سطح بالاتر IgG اختصاصی پولیو و هیپاتیت بی در سرم نیز، همبستگی دارد ($P < 0/05$) (23). اگرچه این دو مطالعه اطلاعات مفیدی از اثرگذاری میکروبیوتای روده بر پاسخ ایمنی به واکسن‌ها به دست دادند و همچنین چند نوع از اعمال واکسن‌ها (خوراکی، تزریقی، تست پوستی) را پوشش دادند، اما تفسیرها در بررسی نتایج آن‌ها بایستی بسیار با دقت و احتیاط صورت پذیرد. از آن‌جا که مکانیسم‌های اثرگذاری میکروبیوتا بر ایمونولوژی پاسخ‌های ایمنی به واکسن‌ها و بالعکس، هنوز در هاله‌ای از ابهام است و شفاف و مشخص نیست، این احتمال باید در نظر گرفته شود که امکان دارد تحریکات همزمان یا نزدیک بهم توسط آنتی‌ژن‌های مختلف، با سبک‌های تحریکی متفاوت، بر نحوه و شدت پاسخ‌های ایمنی، و یا مسیرهای فعال شدن آن اثر گذاشته و یا سبب همپوشانی گردد. نحوه اعمال آنتی‌ژن بر بدن، خود در تحریکات سیستم ایمنی موثر است. حال همراه شدن ورود چند آنتی‌ژن از مسیرهای مختلف، ممکن است عملکرد یکدیگر را تشدید و یا تضعیف و یا تعدیل کنند. این پیچیدگی، زمانی که بخواهیم اثر میکروبیوتای مقیم را نیز در آن دخیل بدانیم، بیش‌تر می‌شود و نیازمند تأمل بیش‌تری است.

از یک سو می‌توان اینگونه تفسیر کرد که اینتراکشن میکروبیوتای روده و سیستم ایمنی در ابتدای دوران نوزادی در پاسخ ایمنی به واکسن‌ها اهمیت ویژه دارد، خصوصاً به این علت که میکروبیوتای روده و سیستم ایمنی با هم تکامل می‌یابند (76-78). همچنین به این علت که بیش‌ترین تعداد واکسن‌ها در این زمان اعمال می‌شوند و هم مواجهه‌های ابتدایی با میکروب‌ها می‌تواند به توسعه و تکامل سیستم ایمنی جهت بدهد. از سوی دیگر نیز میکروبیوتای نوزادی بسیار ناپایدارتر از دوران بزرگسالی است و بیش‌تر تحت تأثیر تغییرات فاکتورهای اثرگذار قرار می‌گیرد (86-79). بنابراین اعمال

مداخلات تغذیه‌ای در نوزادان در جهت افزایش کارایی واکسن‌ها، دشوارتر و ناپایدارتر خواهد بود. برعکس در بزرگسالان میکروبیوتا قابلیت پروفایل کردن بیش‌تر و در نتیجه دستکاری و طراحی برای تغییرات مفید احتمالی بر روی آن را دارا بوده، و بدین سبب دارای قابلیت انجام و پروتکل‌سازی بیش‌تری است. مضاف بر این که پایداری بیش‌تر این تغییرات می‌تواند در طولانی‌تر بودن طول دوران حفاظت‌کنندگی واکسن‌ها موثر باشند. البته تمامی این احتمالات و فرضیه‌ها باید آزموده شده و برای داده‌های بدست آمده نیز به تکرار و تفسیرهای دقیق‌تر و همچنین مطالعات بیش‌تر نیاز است. در مطالعه‌ای از نوع کیس کنترل و آینده‌نگر که درخصوص اثر واکسن بر روی میکروبیوتا و با تکنیک تعیین توالی ژن‌های 16s rRNA بر روی بالغین انجام گرفته است، فادروش و همکاران (63) در بررسی واکسن *سالمونلا تایفی* خوراکی در روزهای مختلفی از واکسیناسیون، نمونه مدفوع گرفته شد و پاسخ واکسنی را نیز اندازه‌گیری نمودند. که این امر نشان از طراحی خوب و قابل اتکاء دارد و در دوره‌های متنوعی صعود و نزول سطح پاسخ‌های واکسنی بررسی شده است. تکنیک به کار رفته در این مطالعه 16s rRNA gene sequencing, V1/V2 Roche 454 بود. نتایج این مطالعه به این صورت ارائه شد: جمعیت‌های باکتریایی پیچیده‌تر و متنوع‌تر، بیش‌تر از راسته Clostridiales هستند و خانواده‌هایی نیز غالب‌تر معرفی شدند (لاک‌نوسپیراسه و رومینوکوکاسه)، با پاسخ‌های ایمنی مولتی فازیک با واسطه سلولی همبستگی دارند. لکن این مطالعه نتوانست تفاوتی در تنوع کلی جمعیت میکروبی در پاسخ‌های همورال (سطوح سرمی IgA و IgG) ما بین افراد ریسپاندر و نان ریسپاندر پیدا کند. این آزمون علاوه بر این که واکسنی منفرد را برای آزمودن روی افراد مختلف انتخاب نموده که اجازه می‌دهد تغییرات میکروبیوتا و سطح فعالیت‌های ایمنی را با اطمینان بیش‌تری به یکدیگر نسبت داد، به علاوه فاکتور دیگری که در این مطالعه مورد توجه است استفاده از بالغین

به عنوان کیس های مطالعه است. از آن جا که بیش تر مطالعات این حیطه بر روی نوزادان انجام شده که میکروبیوتایی بسیار متغیر و انعطاف پذیر دارند، لازم است مطالعات بیش تری بر روی بزرگسالان، کیفیت و کمیت پاسخ ها پس از اعمال دستکاری های میکروبیوتای روده، با توجه به جزئیات تفاوت های سطوح میکروبیوم و پاسخ های ایمنی، انجام شود.

از نتایجی که تا کنون به دست آمده اند در خصوص پاسخ همورال و سلولی بالاتر به واکسن های خوراکی و تزریقی، فایلوم Actinobacteria و راسته Actinomycetales و خانواده Coriobacteria جنس *Corynebacterium* و *Rothia* و *B. longum* در نوزادان، اثر گذار و دارای ارتباط مستقیم شناخته شده اند (23، 58). در حالی که پاسخ های همورال و سلولی پایین تر در واکسن های خوراکی و تزریقی با فراوانی نسبی بالاتر فایلوم Proteobacteria راسته Enterobacteriales و راسته Pseudomonadales مرتبط شناخته شده اند (23). از سویی در مورد واکسن های خوراکی، Lachnospiraceae و Ruminococcaceae و *S. gallolyticus* در نوزادان و بالغین با پاسخ همورال و پاسخ سلولی بالاتر مرتبط بودند (63، 64)، و در نوزادانی که نسبت به واکسن های خوراکی پاسخ همورال پایین تری داشتند فایلوم Bacteroidetes با فراوانی نسبی بالاتری در نمونه ها حضور داشت (64).

به طور کلی در مطالعاتی که در این بازنگری بررسی شدند، بر سر اثر گذاری میکروبیوم روده بر روی پاسخ سیستم ایمنی نسبت به واکسن ها، اتفاق نظر وجود دارد و این نتایج با مطالعاتی که بر روی حیوانات مدل انجام شده است نیز مطابقت دارد. از آن جا که ترکیب میکروبیوتای روده بر پایه فاکتورهای مختلفی چیدمان می گردد که سبب تفاوت میکروبیوتای جمعیت های مختلف می گردند لازم است بررسی این ترکیب با لحاظ جزئیات صحیح و برای هر جمعیت آنالیز گردد.

در پایان می توان نتیجه گرفت که در حیطه اثرات رژیم غذایی، پروبیوتیک ها، آنتی بیوتیک ها و سایر عوامل موثر بر میکروبیوم و بالطبع بر پاسخ ایمنی، در برابر واکسن های خوراکی و تزریقی، با وجود مطالعات ارزشمندی که انجام شده و اطلاعاتی که تا کنون بدست آمده اند، همچنان نیاز مبرمی به افزایش و ارتقاء مطالعه هایی با طراحی های مناسب و قابل مقایسه و همچنین استفاده از تکنیک های آزمایشگاهی پیشرفته احساس می شود. مهم ترین ویژگی که مطالعاتی از این دست می بایست دارا باشند تکرار پذیر بودن بررسی ها و طراحی مناسب و مهم تر از آن قابل مقایسه بودن مطالعات است. به این معنا که با توجه به مقالات آورده شده این که مقالات مختلف هریک برخی از مشخصات ورودی و خروجی را برای کیس ها در نظر بگیرند و یا از واکسن های مختلفی در شرایط مختلفی استفاده کنند و فواصل زمانی واکسیناسیون ها با نمونه گیری ها متفاوت باشند، قابلیت مقایسه پذیری مطالعات را با چالش مواجه می کند. اثرات فاکتورهای محیطی مختلف بر پاسخگویی افراد به واکسن ها مورد مهمی است که به اندازه کافی در مقایسه و تفسیرهای انجام شده بر روی مطالعات، مورد توجه واقع نشده است و تنها در مواردی برخی از مطالعات افراد ساکن جوامع پردرآمد و کم درآمد را تفکیک نموده اند، که این مطلب با توجه به اثر مستقیم و انکارناپذیر تغذیه بر ترکیب میکروبیوم روده و تفاوت قابل توجه سطح خوراک در نواحی مختلف جهان، که مواردی از جمله سطح اقتصادی و اجتماعی و شرایط جغرافیایی در آن دخیل اند، در کنار فاکتور ژنتیک، بسیار با اهمیت می نماید و خود از چالش های مقایسه پذیر بودن مطالعات انجام شده در نواحی مختلف جهان می باشد. اگر چه که تفاوت های موجود در این فاکتورها می توانند عدم پاسخ در نان-ریسپاندرها را با توجه به نقش فرضی میکروبیوتا، توجیه پذیر نمایند. همچنین به این ترتیب تعیین میکروبیوتای مشترک در بین افراد سالم را با مشکل مواجه می کند. از سوی دیگر

تفاوت بررسی‌ها بر روی انسان و حیوانات مدل نیز مطرح است.

با تمام این اوصاف، اثر گذاری میکروبیوتای روده بر توسعه و تکامل سیستم ایمنی و پاسخ به واکسن‌ها در تمامی مطالعات فوق تایید شده است، لکن با این وجود همچنان به تحقیقات مستدل علمی بیش‌تر و تکرار آزمایشات و تفسیر دقیق نتایج نیاز است. با این حال، اگرچه نتایج مطالعات همگی نقش مهمی برای میکروبیوتا در مدولاسیون ایمنی واکسنی پیشنهاد می‌کنند، اما برای واضح شدن این تعاملات نیاز به تکنولوژی‌های پیشرفته برای بررسی هر دو بخش مطرح در باب کارایی واکسن، که متشکل است از ظرفیت و توانایی آنتی ژن در برانگیختن پاسخ ایمنی موثر و همچنین توانایی سیستم ایمنی در پاسخگویی مناسب به تحریک آنتی ژنی مربوطه هست، می‌باشد. به علاوه باید توجه داشت که نه تنها مطالعات کمی اثرگذاری میکروبیوتا بر ایمنوژنیسیته واکسن‌ها را از نظر مکانیسمی بررسی کرده اند، بلکه نتایج تعدادی از این مطالعات رابطه مستقیم و مشخصی از ارتباط ترکیب خاصی از میکروبیوتا با پاسخ دهی به واکسن نشان ندادند. این درحالیست که ارتباط برخی از

گونه‌های باکتریایی با اجزای آن‌ها به‌عنوان مدوله‌کننده‌های قوی سیستم ایمنی در ریسپاندرها در دیگر مطالعات، نشان داده شده است. بنابراین مسئله‌ای که همچنان نامشخص و مبهم باقی مانده، چگونگی اثرگذاری تغییرات بزرگ یا جزئی پروفایل میکروبی بر واکنش‌های سیستم ایمنی است. باید بتوان متابولیت‌ها و ترکیبات میکروبی که اثرات ادجوانتی و ایمنومدولاتوری دارند را برای هر گروه افراد و برای هر واکسن خاص، مجدداً بررسی و ردیابی نمود. به‌علاوه لازم است جزئیات چگونگی اثرپذیری میکروبیوتا از فاکتورهای مختلف خصوصاً در محیط‌های مختلف را مشخص نمود، تا علاوه بر استفاده از این داده‌ها در جهت افزایش کارایی واکسن‌ها، بتوان از اثرات نامطلوب و ناخواسته اینگونه دستکاری‌ها بر روی افراد، بر حذر ماند. خصوصاً در شرایطی که همچنان با داده‌های موجود نمی‌توان بر سر یک پروفایل میکروبی پایه در افراد سالم اتفاق نظر داشت و با توجه به این امر که میکروبیوتا از جهات مختلفی می‌تواند اثرات خود را اعمال کنند، که بعضاً ردیابی آن‌ها پروسه پیچیده و دشواری را می‌طلبد، بنابراین بر سر تضمین اثرگذاری و همچنین مکانیسم این اثرگذاری‌ها هنوز راهی طولانی در پیش است.

References

1. Turnbaugh PJ, Ley R E, Hamady M, Fraser-Liggett CM, Knight R, Gordon JL. The human microbiome projects. *Nature* 2007; 449: 804-810.
2. Kho Z Y, Lal SK. The human gut microbiome—a potential controller of wellness and disease. *Front Microbiol* 2018; 9: 1835.
3. Ettihad Marvasti F, Moshiri A, Taghavi MS, Riazi S, Taati M, Sadati SF, et al. The first report of differences in gut microbiota composition between obese and normal weight iranians subjects. *Iran Biomed J* 2019; 24(3): 148-154.
4. Ejtahed HS, Tito RY, Siadat SD, Hasani-Ranjbar Sh, Hoseini-Tavassol Z, Rymenans L, et al. Metformin induces weight loss associated with gut microbiota alteration in non-diabetic obese women: a randomized double-blind clinical trial. *Eur J Endocrinol* 2019; 180: 165-176.
5. Hooks KB, O'Malley MA. Dysbiosis and its discontents. *MBIO* 2017; 8(5): 1492-1417.
6. Tamburini S, Shen N, Wu HC, Clemente JC. The microbiome in early life: implications for health outcomes. *Natr Med* 2016; 22: 713-722.

7. Ursell LK, Metcalf JL, Parfrey LW, Knight R. Defining the human microbiome. *Nutr Rev* 2012; 70(Suppl 1): S38-S44.
8. Matamoros S, Gras-Leguen C, Le Vacon F, Potel G, de La Cochetiere MF. Development of intestinal microbiota in infants and its impact on health. *Trends Microbiol* 2013; 21(4): 167-173.
9. Hugon P, Dufour JC, Colson P, Fournier PE, Sallah K, Raoult D. A comprehensive repertoire of prokaryotic species identified in human beings. *Lancet Infect Dis* 2015; 15(10): 1211-1219.
10. Thursby E, Juge N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochem J* 2017; 474(11): 1823-1836.
11. Swidsinski A, Loening-Baucke V, Lochs H, Hale LP. Spatial organization of bacterial flora in normal and inflamed intestine: a fluorescence in situ hybridization study in mice. *World J Gastroenterol* 2005; 11(8): 1131-1140.
12. Virgin HW. The virome in mammalian physiology and disease. *Cell* 2014; 157(1): 142-150.
13. Dalmasso M, Hill C, Ross RP. Exploiting gut bacteriophages for human health. *Trends Microbiol* 2014; 22(7): 399-405.
14. Duerkop BA, Hooper LV. Resident viruses and their interactions with the immune system. *Nat Immunol* 2013; 14(1): 654-659.
15. Zimmermann P, Curtis N. The influence of the intestinal microbiome on vaccine responses. *Vaccine* 2018; 36(30): 4433-4439.
16. Jamieson AM. Influence of the microbiome on response to vaccination. *Hum Vaccin Immunother* 2015; 11: 2329-2331.
17. Lynn MA, Tumes DJ, Choo JM, Sribnaia A, Blake SJ, Leong LEX, et al. Early-life antibiotic-driven dysbiosis leads to dysregulated vaccine immune responses in mice. *Cell Host Microbe* 2018; 23(5): 653-660 e5.
18. Ichinohe T, Pang IK, Kumamoto Y, Peaper DR, Ho JH, Murray TS, Iwasaki A. Microbiota regulates immune defense against respiratory tract influenza A virus infection. *Proc Natl Acad Sci* 2011; 108(13): 5354-5359.
19. den Besten G, van Eunen K, Groen AK, Venema K, Reijngoud DJ, Bakker BM. The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *J Lipid Res* 2013; 54(9): 2325-2340.
20. Furusawa Y, Obata Y, Fukuda S, Endo TA, Nakato G, Takahashi D, et al. Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature* 2013; 504: 446-450.
21. Zelante T, Iannitti RG, Cunha C, De Luca A, Giovannini G, Pieraccini G, et al. Tryptophan catabolites from microbiota engage aryl hydrocarbon receptor and balance mucosal reactivity via interleukin-22. *Immunity* 2013; 39(2): 372-385.
22. Willing BP, Dicksved J, Halfvarson J, Andersson AF, Lucio M, Zheng Z, et al. A pyrosequencing study in twins shows that gastrointestinal microbial profiles vary with inflammatory bowel disease phenotypes. *Gastroenterology* 2010; 139(6): 1844-1854.
23. Huda MN, Lewis Z, Kalanetra KM, Rashid M, Ahmad SM, Raqib R, et al. Stool microbiota and vaccine responses of infants. *Pediatrics* 2014; 134(2): e362-e372.
24. Pabst O, Hornef M. Gut microbiota: a natural adjuvant for vaccination. *Immunity* 2014; 41(3): 349-351.
25. Brotman RM, Shardell MD, Gajer P, Tracy JK, Zenilman JM, Ravel J, et al. Interplay Between the Temporal Dynamics of the

- Vaginal Microbiota and Human Papillomavirus Detection. *J Infect Dis* 2014; 210(11): 1723-1733.
26. Petersen C, Round JL. Defining dysbiosis and its influence on host immunity and disease. *Cell Microbiol* 2014; 16(7): 1024-1033.
27. Kowarsky M, Camunas-Soler J, Kertesz M, De Vlaminc I, Koh W, Pan W, et al. Numerous uncharacterized and highly divergent microbes which colonize humans are revealed by circulating cell-free DNA. *PNAS* 2017; 114(36): 9623-9628.
28. Bjorksten B. Diverse microbial exposure- Consequences for vaccine development. *Vaccine* 2012; 30(29): 4336-40.
29. Huttenhower C, Gevers D, Knight R, Abubucker S, Badger J, Chinwalla AT, et al. The Human Microbiome Project (HMP) Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature* 2012; 486(7402): 207-214.
30. Schwarzenbach H, Hoon DSB, Pantel K. Cell-free nucleic acids as biomarkers in cancer patients. *Nat Rev Cancer* 2011; 11: 426-437.
31. Sender R, Fuchs S, Milo R. Revised estimates for the number of human and bacteria cells in the body. *PLoS Biol* 2016; 14: e1002533.
32. Gensollen T, Iyer SS, Kasper DL, Blumberg RS. How colonization by microbiota in early life shapes the immune system. *Science* 2016; 352(6285): 539-544.
33. 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 Pathog* 2016; 12(12): e1005997.
34. Kim YG. Microbiota Influences Vaccine and Mucosal Adjuvant Efficacy. *Immune Netw* 2017; 17(1): 20-24.
35. Parker EPK, Kampmann B, Kang G, Grassly NC. Influence of enteric infections on response to oral poliovirus vaccine: a systematic review and meta-analysis. *J Infect Dis* 2014; 210(6): 853-864.
36. Kaplan JL, Shi HN, Walker WA. The role of microbes in developmental immunologic programming. *Pediatr Res* 2011; 69: 465-472.
37. Hattori M, Taylor TD. The Human Intestinal Microbiome: A New Frontier of Human Biology. *DNA Res* 2009; 16(1): 1-12.
38. Maynard CL, Elson CO, Hatton RD, Weaver CT. Reciprocal interactions of the intestinal microbiota and immune system. *Nature* 2012; 489: 231-241.
39. Lynn DJ, and Pulendran B. The potential of the microbiota to influence vaccine responses. *J Leukoc Biol* 2018; 103(2): 225-231.
40. Nyangahu DD, Plumlee C, Wendoh J, Urdahl KB, Jaspan H. Impact Of Gut Microbiota On Vaccine Response In Hiv Exposed Infants. *J Immunol* 2019; 202(Suppl,1): 72.
41. Lazar V, Ditu L-M, Pircalabioru GG, Gheorghe I, Curutiu C, Holban AM, et al. Aspects of Gut Microbiota and Immune System Interactions in Infectious Diseases, Immunopathology, and Cancer. *Front Immunol* 2018; 9: 1830.
42. Ciabattini A, Olivieri R, Lazzeri E, Medagliani D. Role of the Microbiota in the Modulation of Vaccine Immune Responses. *Front Microbiol* 2019; 10: 1-14.
43. 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(3): 478-492.
44. Belizário JE, Napolitano M. Human microbiomes and their roles in dysbiosis, common diseases, and novel therapeutic

- approaches. *Front Microbiol* 2015; 6: 1050.
45. Whittle E, Leonard MO, Harrison R, Gant TW, Tonge DP. Multi-method characterization of the human circulating microbiome. *Front Microbiol* 2018; 9: 3266.
 46. Round JL, Mazmanian SK. Inducible Foxp3 regulatory T-cell development by a commensal bacterium of the intestinal microbiota. *Proc Natl Acad Sci (PNAS)* 2010; 107(27): 12204-12209.
 47. Lamas B, Richard ML, Leducq V, Pham HP, Michel ML Da Costa G, et al. CARD9 impacts colitis by altering gut microbiota metabolism of tryptophan into aryl hydrocarbon receptor ligands. *Nat Med* 2016; 22: 598-605.
 48. Belkaid Y, Harrison OJ. Homeostatic Immunity and the Microbiota. *Immunity* 2017; 46(4): 562-576.
 49. Karst SM. The influence of commensal bacteria on infection with enteric viruses. *Nat Rev Microb* 2016; 14(4): 197-204.
 50. Wesemann DR. Microbes and B cell development. *Adv Immunol* 2015; 125(1): 155-178.
 51. Severson KM, Mallozzi M, Driks A, Knight KL. B cell development in GALT: role of bacterial superantigen-like molecules. *J Immunol* 2010; 184(12): 6782-6789.
 52. 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(3): 647-658.
 53. Haynes BF, Shaw GM, Korber B, Kelsoe G, Sodroski J, Hahn BH, et al. HIV-Host Interactions: Implications for Vaccine Design. *Cell Host Microbe* 2016; 19(3): 292-303.
 54. Williams WB, Liao H-X, Moody MA, Kepler TB, Alam SM, Gao F, et al. Diversion of HIV-1 vaccine-induced immunity by gp41-microbiota cross-reactive antibodies. *Science* 2015; 349(6249): aab1253.
 55. Rahimi P, Vahabpour RA, Aghasadeghi MR, Sadat SM, Howaizi N, Mostafavi E, et al. Neutralizing antibody response after intramuscular purified vero cell rabies vaccination (PVRV) in Iranian patients with specific medical conditions. *PloS one* 2015; 10(10): e0139171.
 56. SjöÈgren YM, Tomicic S, Lundberg A, BoÈttcher MF, Bjørksten B, Sverremark-Ekström E, et al. Influence of early gut microbiota on the maturation of childhood mucosal and systemic immune responses. *Clin Exp Allergy* 2009; 39(12):1842-1851.
 57. Rahimi P, Tabatabaie H, Gouya MM, Zahraie M, Mahmudi M, Ziaie A, et al. Characterization of mutations in the VP1 region of Sabin strain type 1 polioviruses isolated from vaccine-associated paralytic poliomyelitis cases in Iran. *J Clin Virol* 2007; 39(4): 304-307.
 58. Rahimi P, Tabatabaie H, Gouya MM, Mahmudi M, Musavi T, SamimiRad K, et al. Direct identification of non-polio enteroviruses in residual paralysis cases by analysis of VP1 sequences. *J Clin Virol* 2009; 45(2): 139-141.
 59. Integrative HMP (iHMP) Research Network Consortium. The Integrative Human Microbiome Project. *Nature* 2019; 569(7758): 641-648.
 60. Pettengill MA, van Haren SD, Li N, Dowling DJ, Bergelson I, Jans J, et al. Distinct TLR-mediated cytokine production and immunoglobulin secretion in human newborn naïve B cells. *Innate Immun* 2016; 22(6): 433-443.
 61. Mullie 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(5): 791-795.
62. Levine MM. Immunogenicity and efficacy of oral vaccines in developing countries: lessons from a live cholera vaccine. *BMC Biol* 2010; 8: 129.
 63. Seekatz AM, Panda A, Rasko DA, Toapanta FR, Eloie-Fadrosch EA, Khan AQ, et al. Differential response of the cynomolgus macaque gut microbiota to *Shigella* infection. *PLoS One* 2013; 8(6): e64212.
 64. Eloie-Fadrosch EA, McArthur MA, Seekatz AM, Drabek EF, Rasko DA, Sztein MB, Fraser CM. Impact of oral typhoid vaccination on the human gut microbiota and correlations with *S. Typhi*-specific immunological responses. *PLoS One* 2013; 8(4): e62026.
 65. Harris V, Armah G, Fuentes S, Korpela K, De Vos W. The infant gut microbiome correlates significantly with rotavirus vaccine response in rural Ghana. *J Infect Dis* 2016; 215(1): 34-41.
 66. Harris VC, Armah G, Fuentes S, Korpela K E, Parashar U, Victor JC, et al. Significant correlation between the infant gut microbiome and rotavirus vaccine response in rural Ghana. *J Infect Dis* 2017; 215(1): 34-41.
 67. Parker EPK, Praharaj I, Zekavati A, Lazarus RP, Giri S, Operario DJ, et al. Influence of the intestinal microbiota on the immunogenicity of oral rotavirus vaccine given to infants in south India. *Vaccine* 2018; 36(2): 264-272.
 68. Harris V, Ali A, Fuentes S, Korpela K, Kazi M, Tate J, et al. Rotavirus vaccine response correlates with the infant gut microbiota composition in Pakistan. *Gut Microbes* 2018; 9(2): 93-101.
 69. Lynn MA, Tumes DJ, Choo JM, Sribnaia A, Blake SJ, Leong LEX, et al. Early-life antibiotic-driven dysbiosis leads to dysregulated vaccine immune responses in mice. *Cell Host Microbe* 2018; 23: 653-660.e5.
 70. Badi SA, Moshiri A, Marvasti FE, Mojtahedzadeh M, Kazemi V, Siadat SD. Extraction and Evaluation of Outer Membrane Vesicles from Two Important GutMicrobiotaMembers, *Bacteroides fragilis* and *Bacteroides thetaiotaomicron*. *Cell J* 2020; 22(3): 344-349.
 71. Ashrafian F, Behrouzi A, Shahriary A, Ahmadi Badi S, Davari M, Khatami S, et al. Comparative study of effect of *Akkermansia muciniphila* and its extracellular vesicles on toll-like receptors and tight junction. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench* 2019; 12(2): 163-168
 72. Rabiei N, Badi SA, Marvasti FE, Sattari TN, Vaziri F, Siadat SD. Induction effects of *Faecalibacterium prausnitzii* and its extracellular vesicles on toll-like receptor signaling pathway gene expression and cytokine level in human intestinal epithelial cells. *Cytokine* 2019; 121: 154718.
 73. Moosavi SM, Akhavan Sepahi A, Mousavi SF, Vaziri F, Siadat SD. The effect of *Faecalibacterium prausnitzii* and its extracellular vesicles on the permeability of intestinal epithelial cells and expression of PPARs and ANGPTL4 in the Caco-2 cell culture model. *J Diabetes Metab Disord* 2020. Available at: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40200-020-00605-1>.
 74. Lauener RP, Birchler T, Adamski J, Braun-Fahrlander C, Bufe A, Herz U, et al. Expression of CD14 and Toll-like receptor 2 in farmers' and non-farmers' children. *Lancet* 2002; 360(9331): 465-466.
 75. Smolen KK, Ruck CE, Fortuno ES, Ho K, Dimitriu P, Mohn WW, et al. Pattern recognition receptor-mediated cytokine response in

- infants across 4 continents. *J Allergy Clin Immunol* 2014; 133(3): 818-826.e4.
76. Kim D, Kim Y, Seo S, Kim D, 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(5): 524-530.
 77. Fujimura KE, and Lynch SV. Microbiota in allergy and asthma and the emerging relationship with the gut microbiome. *Cell Host Microbe* 2015; 17(5): 592-602.
 78. Panzer AR, and Lynch SV. Influence and effect of the human microbiome in allergy and asthma. *Curr Opin Rheumatol* 2015; 27(4): 373-380.
 79. Coit P, and Sawalha AH. The human microbiome in rheumatic autoimmune diseases: a comprehensive review. *Clin Immunol* 2016; 170: 70-79.
 80. Mangin I, Suau A, Gotteland M, Brunser O, Pochart P. Amoxicillin treatment modifies the composition of Bifidobacterium species in infant intestinal microbiota. *Anaerobe* 2010; 16(4):433-438.
 81. Adlerberth I, Strachan DP, Matricardi PM, Ahrné S, Orfei L, Aberg N, et al. Gut microbiota and development of atopic eczema in 3 European birth cohorts. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 120(2): 343-350.
 82. Backhed 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(5):690-703.
 83. Fallani M, Young D, Scott J, Norin E, Amarri S, Adam R, et al. Intestinal microbiota of 6-week-old infants across Europe: geographic influence beyond delivery mode, breast-feeding, and antibiotics. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2010; 51(1): 77-84.
 84. Penders J, Thijs C, Vink C, Stelma FF, Snijders B, Kummeling I, et al. Factors influencing the composition of the intestinal microbiota in early infancy. *Pediatrics* 2006; 118(2): 511-521.
 85. Dominguez-Bello MG, Costello E K, Contreras M, Magris M, Hidalgo, G, Fierer N, et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(26): 11971-11975.
 86. Martin R, Makino H, Cetinyurek Yavuz A, Ben-Amor K, Roelofs M, Ishikawa E, et al. Early-life events, including mode of delivery and type of feeding, siblings and gender, shape the developing gut microbiota. *PLoS One* 2016; 11(6): e0158498.
 87. Azad MB, Konya T, Maughan H, Guttman DS, Field CJ, Chari RS, et al. Gut microbiota of healthy Canadian infants: profiles by mode of delivery and infant diet at 4 months. *CMAJ* 2013; 185(5): 385-394.