



MECHANIZMY DZIAŁANIA I SPODZIEWANE EFEKTY KLINICZNE MODULACJI UKŁADU MALT PRZEZ DOUSTNE LIOFILIZATY BAKTERYJNE

Mechanisms of action and expected clinical effects of modulation of the MALT system by oral bacterial lyophilisates



Marta Stelmasiak¹, Monika Bierżyńska², Barbara Joanna Bałań³

1. Wydział Nauk Medycznych i Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Technologiczno-Humanistyczny im. Kazimierza Pułaskiego w Radomiu, Polska
2. Zakład Immunologii, Biochemii i Żywienia, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Polska
3. Zakład Profilaktyki Zagrożeń Środowiskowych Alergologii i Immunologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Wydział Nauk o Zdrowiu, Polska

Marta Stelmasiak –  0000-0002-4644-4147

Streszczenie: Celem pracy jest przedstawienie mechanizmów działania i opisanie spodziewanych efektów klinicznych modulacji układu MALT przez wybrane, ogólnodostępne doustne szczepionki immunologiczne podnoszące poziom odporności przeciwniebezpiecznej. Szczepionki nieswoiste (doustne, donosowe i iniekcyjne) stosuje się w profilaktyce i leczeniu nawracających zakażeń dróg oddechowych, zatok przynosowych, ucha środkowego, redukcji zaostrzeń alergicznego zapalenia dróg oddechowych a także w zakażeniach dróg moczowo-płciowych. Biorąc pod uwagę obecną sytuację epidemiologiczną, jak również wcześniejsze incydenty epidemii chorób zakaźnych, a także choroby wynikające z niedostatecznej ochrony organizmu przed patogenami, warto rozważyć korzyści, jakie niosą za sobą immunomodulujące właściwości szczepionek doustnych. Preparaty te są bezpieczne, skuteczne, korzystnie cenowo względem tradycyjnych szczepionek. Największe zastosowanie mają w grupie pacjentów narażonych na nawracające infekcje. Szczególną grupą docelową są chorzy przewlekłe na choroby układu oddechowego (m.in. astma, POChP). Doustne szczepionki mogą oddziaływać na różne komórki układu odpornościowego, zmieniając ich aktywność oraz produkcję białek porozumiewania komórkowego (cytokin, czynników wzrostu, chemokin, interferonów). Obserwowane efekty kliniczne stosowania doustnych szczepionek to najczęściej zapobieganie lub zmniejszanie częstości występowania infekcji, jak również skracanie czasu ich trwania oraz ograniczenie szczytów stanu zapalnego, co w konsekwencji umożliwia zmniejszenie częstości i czasu stosowania antybiotyków. Przyjmowanie doustnych preparatów immunologicznych ograniczało też liczbę stosowanych leków. Doustne szczepionki immunologiczne modulują swoiście i nieswoiście układ MALT, podnosząc odporność śluzówkową, a także ogólnoustrojową, co przekłada się na poprawę parametrów klinicznych.

Abstract: The paper outlines mechanisms and describes expected clinical effects of MALT modulation by selected generally available oral immune vaccines that enhance anti-infective immunity. Non-specific vaccines (oral, intranasal and injectable ones) are used to prevent and treat recurrent infections of the respiratory tract, paranasal sinuses, middle ear, to reduce exacerbations of allergic respiratory tract inflammation, as well as in urogenital tract infections. Considering the current epidemiological situation, as well as previous incidents of infectious disease epidemic, as well as diseases resulting from inadequate protection of the body against pathogens, benefits of oral vaccine immunomodulatory properties should be taken under consideration. These products are safe, effective and reasonably priced compared to traditional vaccines and are most commonly used in patients at risk of recurrent infections. Patients suffering from chronic respiratory diseases (e.g. asthma, COPD) are a particular target group. Oral vaccines can influence various cells of the immune system by altering their activity and production of messenger proteins (cytokines, growth factors, chemokines, interferons). Observed clinical effects of oral vaccines most often include prevention or reduction of infection incidence, as well as shortening their duration and inflammation spread suppression, which leads to reduction in frequency and duration of antibiotic use. Taking oral immune preparations has also reduced the amount of applied medication. Oral immune vaccines modulate MALT specifically and non-specifically, enhancing mucosal and systemic immune system, resulting in improved clinical parameters.

Słowa kluczowe: immunomodulacja, doustne szczepionki bakteryjne, MALT, zwiększanie odporności.

Key words: immunomodulation, oral bacterial vaccines, MALT, increase of immunity.

DOI 10.53301/lw/150189

Praca wpłynęła do Redakcji: 10.12.2021

Zaakceptowano do druku: 17.05.2022

Autor do korespondencji:

Marta Stelmasiak,
Wydział Nauk Medycznych i Nauk o Zdrowiu,
Uniwersytet Technologiczno-Humanistyczny
im. Kazimierza Pułaskiego w Radomiu
e-mail: mjestelmasiak@gmail.com
tel.: +48 669 346 189

Wstęp

Błony śluzowe, których powierzchnia u dorosłego człowieka wynosi nawet do 400 m², oraz zlokalizowane w nich grudki limfatyczne [1] tworzą największy narząd układu odpornościowego – MALT (*mucosa associated lymphoid tissue*) [2]. Błony śluzowe stanowią główne miejsce kontaktu organizmu ze środowiskiem zewnętrznym oraz główną drogę penetracji czynników zakaźnych i potencjalnie szkodliwych. Organizm wykształcił więc, oprócz fizykochemicznych barier ochronnych, wiele wrodzonych a także nabytych mechanizmów działających w obrębie MALT [3]. Ich zadaniem jest obrona organizmu przed napływającymi z zewnątrz zagrożeniami [4].

Tkanka limfatyczna towarzysząca błonom śluzowym, zwana z ang. MALT, zlokalizowana jest w: drogach oddechowych górnych (NALT – *nasal associated lymphoid tissue*) i dolnych (BALM – *bronchus-associated lymphoid tissue*), w przewodzie pokarmowym (GALT – *gut-associated lymphoid tissue*), w skórze (SALT – *skin-associated lymphoid tissue*) czy układzie moczowo-płciowym. Choć poszczególne struktury należące do MALT są od siebie anatomicznie oddzielone, jednakże kooperują ze sobą tworząc tzw. wspólny układ odpornościowy błon śluzowych. Koncepcja wspólnego układu odpornościowego błon śluzowych odnosi się więc do założenia, że zetknięcie się limfocytów z antygenem w jednym miejscu błony śluzowej (dzięki zdolności tych komórek do migracji) może zapewnić odporność w błonach śluzowych innych, odległych układów czy narządów [4].

Immunomodulacja za pomocą szczepień doustnych wydaje się więc obiecującym rozwiązaniem w podnoszeniu odporności oraz terapii ostrych, jak również przewlekłych infekcji. W przeciwieństwie do tradycyjnych szczepień, ujętych w kalendarzu szczepień, doustne preparaty indukują miejscowo, w przewodzie pokarmowym, odpowiedź immunologiczną przeciw antygenom patogenów będących składnikami szczepionki, a dzięki krążeniu komórek układu odpornościowego i możliwościom zasiedlania innych struktur powiązanych z MALT (gruczoły ślinowe, gruczoł piersiowy, błona śluzowa dróg oddechowych, błona śluzowa dróg moczowo-płciowych) zapewniają również szeroką ochronę. Doustne szczepionki wspierające układ immunologiczny zawierają głównie antygeny bakteryjne i to przeciw nim wytwarzana jest swoista odporność, jednakże mogą również – aktywując wiele mechanizmów obronnych w obrębie MALT – stymulować nieswoiste mechanizmy obronne uczestniczące w odpowiedzi przeciw innym czynnikom chorobotwórczym, w tym mogą również wpływać na odporność przeciwwirusową. Budowanie odporności przeciwwirusowej po podaniu lizatów bakteryjnych związane jest głównie ze zwiększeniem ekspresji receptorów Toll-podobnych

na limfocytach. Właściwość ta nabiera szczególnego znaczenia w działaniach profilaktycznych, zwłaszcza w obecnych czasach, gdy pojawiają się nowe rodzaje wirusów cechujące się wysoką wirulencją, a skuteczne metody ich zwalczania nie są jeszcze dobrze poznane. Brak skutecznych metod leczenia i rosnąca zakaźność wirusów powoduje dużą liczbę zachorowań o ciężkim i ostrym przebiegu, które mogą prowadzić nawet do śmierci.

1. Doustne szczepionki immunologiczne – korzyści

Współcześnie z wielu powodów preferuje się opracowywanie szczepionek podawanych doustnie. Mają one bowiem przewagę w wielu aspektach nad tymi podawanymi w iniekcjach. Ze względu na fakt, iż śluzówka przewodu pokarmowego stanowi największą część błon śluzowych, podana tą drogą szczepionka jest łatwa w zastosowaniu i szybko aktywuje swoje działanie. Podawanie doustnie preparatów to najbardziej pożądana i akceptowana przez pacjentów droga przyjmowania produktów leczniczych. Z licznych analiz wiadomo, że ponad 60% komercjalizowanych niskocząsteczkowych produktów leczniczych przyjmowanych jest właśnie tą drogą. Najistotniejsze wydaje się jednak to, że droga doustna umożliwia stymulację humoralnej, jak i komórkowej odpowiedzi immunologicznej, a stymulacja odbywa się nie tylko lokalnie, ale też ogólnoustrojowo, co rozwija szerszą, a także bardziej długotrwałą ochronę [5].

2. Działanie immunologiczne szczepionek doustnych

Doustne szczepionki, działające miejscowo na błonę śluzową dzięki zastosowaniu odpowiednich adiuwantów, wywołują odpowiedź zarówno ogólnoustrojową – związaną z IgG, ochronną – związaną z sIgA, jak również cytotoksyczną – w mechanizmie cytotoksyczności zależnej od przeciwciał ADCC (*antibody dependent cell cytotoxicity*), skierowaną przeciwko patogenom. Dzięki migracji komórek produkujących przeciwciała IgA miejscowa immunizacja śluzówkowa prowadzi do obecności antygenowo-swoistych IgA w odległych miejscach śluzówki. Ponieważ jednak rozpuszczalne antygeny mogą nie być skutecznie wychwytywane podczas podawania ich drogami przezśluzówkowymi i generalnie indukują tolerancję immunologiczną, immunizacja śluzówkowa wymaga stosowania adiuwantów i/lub wydajnych nośników jako układów dostarczania antygeny. Sformułowano więc założenia, iż idealna szczepionka śluzówkowa powinna:

- zawierać antygeny chronione przed degradacją enzymatyczną lub chemiczną,
- ograniczać ich eliminację lub nadmierne rozcieńczenie w organizmie,
- ułatwiać preferencyjne pobieranie antygeny przez komórki prezentujące antygen (APC) oraz komórki nabłonka w celu odpowiedniej stymulacji odporności

swoistej (sIgA), a także cytotoksycznych (LTC) i/lub pomocniczych (LTh) limfocytów T. Mechanizm tego działania polega na tym, że wydzielnicze przeciwciała IgA, opłaszczając bakterie, blokują kolonizację nabłonka śluzówki przez te patogeny oraz wykazują działanie antyadhezyjne, przez co zmniejszają ryzyko wtargnięcia bakterii w głąb organizmu. sIgA unieczynnają także białkowe toksyny bakteryjne i wirusowe i mogą aktywować komórki zdolne do spontanicznej lub zależnej od przeciwciał cytotoksyczności (komórki NK, LTC), co przekłada się na ochronę przeciwinfekcyjną.

3. Immunologia przewodu pokarmowego po podaniu szczepionki doustnej

Po doustnym podaniu szczepionki jej antygeny docierają do jelita cienkiego. Tam mają kontakt z błoną śluzową i strukturami z nią związanymi, jak np. nagromadzenie tkanki limfatycznej w postaci rozproszonych lub występujących w skupiskach grudek chłonnych, które są zlokalizowane w przewodzie pokarmowym w kępkach Peyera. W skupiskach tkanki limfatycznej są obecne komórki układu odpornościowego zdolne do prezentacji antygeny. Należą do nich komórki dendrytyczne, limfocyty B (LB) oraz makrofagi. Układ GALT ponadto zawiera wyspecjalizowane komórki M, a także limfocyty typu T, komórki NK, granulocyty, komórki tuczne i inne. Po prezentacji przez komórki prezentujące antygen APC (*antigen presenting cells*) antygeny limfocytom T (CD4) dochodzi do różnicowania ich w stronę LTh2 o właściwościach przeciwzapalnych lub LTh1 działających prozapalnie. LTh2 poprzez wytwarzanie odpowiednich cytokin stymulują LB do produkcji swoistych przeciwciał skierowanych przeciw rozpoznanemu antygenowi, uruchamiając w ten sposób odpowiedź humoralną. Pobudzone limfocyty B przekształcają się w komórki plazmatyczne i wytwarzają swoiste przeciwciała, a także mogą przemieszczać się na znaczne odległości za pośrednictwem krążenia ogólnoustrojowego, po czym osiedlać się w węzłach limfatycznych w stanie gotowości do ponownej reakcji na obecność już poznanego antygeny. Równoległe komórki dendrytyczne migrują do węzłów chłonnych, aby aktywować odpowiedź humoralną oraz komórkową poprzez interakcję z zasiedlającymi ośrodki rozmnażania limfocytami T i B [5].

4. Mechanizmy działania i spodziewane efekty kliniczne stosowania wybranych doustnych szczepionek immunologicznych

Obecne na rynku nieswoiste szczepionki bakteryjne o działaniu immunomodulującym różnią się pomiędzy sobą składem. Zawierają antygeny różnych bakterii chorobotwórczych wywołujących najczęściej schorzenia dróg oddechowych, moczowo-płciowych czy inne choroby infekcyjne (dur brzuszny, cholera). Skład szczepionki zależy od przeznaczenia profilaktycznego oraz od doboru przez producenta. Podobnie dawka antygenów poszczególnych szczepów bakteryjnych w różnych preparatach może być różna. Podstawą preparatów są lizaty bakteryjne oraz frakcje rybosomalne, a także składniki ścian komórkowych bakterii uzyskane od gatunków, które najczęściej powodują zakażenia układu oddechowego, takich jak: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus viridans*,

Streptococcus pneumoniae (kilka serotypów), *Streptococcus pyogenes*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella ozaenae*, *Moraxella catarrhalis* i *Haemophilus influenzae*. Wcześniej opisano np. skład szczepionki Broncho-Vaxom (OM Pharma SA, Portugalia). 1 kapsułka Broncho-Vaxom zawiera 7 mg lub 3,5 mg (forma dla dzieci) lizatu bakteryjnego, natomiast w innej szczepionce – ISMIGEN (Lallemand Pharma Europe, Włochy) – w 1 tabletkę jest 7 mg lizatu bakteryjnego zawierającego po 6 miliardów bakterii: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus viridans*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella ozaenae*, *Haemophilus influenzae*, *Nisseria catharhalis*, *Streptococcus pneumoniae* oraz 43 mg glicyny. UROVAXOM (OM Pharma SA, Portugalia) natomiast zawiera liofilizat 60 mg *E.coli*.

Bez względu jednak na skład oraz dawkę antygeny preparaty pobudzają mechanizmy naturalnej obrony organizmu, przez co podnoszą odporność na zakażenie dróg oddechowych czy moczowych. Działanie takie wynika z aktywacji makrofagów oraz LT i LB. Efekt kuracji zależy więc od składu preparatu i schematu dawkowania, ale także od indywidualnej reakcji układu immunologicznego pacjenta.

Powyżej wzmiankowano o ogólnych mechanizmach działania bakteryjnych preparatów stymulujących odporność. W Tabeli 1. przedstawiono skład antygenowy wybranych szczepionek, sposób dawkowania, a także niektóre wyniki badań dotyczących mechanizmów immunostymulujących poszczególnych preparatów.

5. Możliwości wykorzystania doustnych szczepionek w terapii COVID-19

Duży potencjał ma zastosowanie doustnych preparatów immunologicznych w próbie zapobiegania oraz leczenia COVID-19. W badaniach klinicznych wykazano, że OM-85 Broncho-Vaxom® lizat bakteryjny, wpływa na redukcję wirusowych infekcji dróg oddechowych [57, 58]. Zakażenie komórek nabłonka przez SARS-CoV-2 zależy od interakcji jego białka kolca (białka S) z białkami błony komórkowej gospodarza. W jednym z badań zbadano wpływ OM-85 na ekspresję białek wiążących białko S przez ludzkie komórki nabłonka oskrzeli. Ludzkie komórki nabłonka oskrzeli traktowano OM-85 przez 5 dni. OM-85 znacząco zmniejszył ekspresję m.in. białka ACE2 ($p < 0,001$) będącego receptorem dla białek kolca wirusa. Wszystkie efekty stosowania OM-85 były zależne od stężenia i czasu. Wyniki sugerują, że OM-85 może zmniejszać wiązanie białka S SARS-CoV-2 z komórkami nabłonka poprzez modyfikację białek błony komórkowej gospodarza i specyficznych glikozaminoglikanów. Dlatego można uznać, że OM-85 może stanowić wsparcie terapii COVID-19 [59]. Skuteczność ochronnego działania doustnych szczepionek bakteryjnych przeciwko COVID-19 zaobserwowano również w badaniach klinicznych. W badaniach na pacjentach pediatrycznych podkreślano bezpieczeństwo i efektywność immunizacji za pomocą lizatów bakteryjnych w profilaktyce zakażenia SARS-CoV-2 [60].

Warto podkreślić, iż mutacje wirusowe mogą zmniejszać skuteczność stosowanych szczepionek przeciwko COVID-19 (tj. Comirnaty, COVID-19 Vaccine Janssen,

Tabela 1. Charakterystyka, skład antygenowy, opisane w literaturze mechanizmy działania oraz sposób dawkowania wybranych preparatów bakteryjnych liofizatów doustnych o działaniu immunomodulującym.

Nazwa preparatu	Skład antygenowy	Charakterystyka	Mechanizm działania	Schemat dawkowania
1	2	3	4	5
Broncho-Vaxom (BV)	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Haemophilus influenzae</i> • <i>Streptococcus (Diplococcus) pneumoniae</i> • <i>Klebsiella pneumoniae ssp. pneumoniae i sp. ozaenae</i> • <i>Staphylococcus aureus</i> • <i>Streptococcus pyogenes i sanguinis (viridans)</i> • <i>Moraxella (Branhamella/Neisseria) catarrhalis</i> 	Preparat BV stosowany u dorosłych i dzieci w leczeniu i zapobieganiu nawracającym infekcjom dróg oddechowych [6-11]. W grupie przyjmującej BV obserwowano znacznie lepsze efekty niż w grupie kontrolnej, biorąc pod uwagę czas trwania antybiotykoterapii, infekcji, gorączki, kaszlu, świszczącego oddechu. Osoby z grupy przyjmującej BV miały wyższy poziom immunoglobulin w surowicy (IgG, IgA lub IgM) oraz limfocytów T (CD3+, CD4+ lub CD8+) w stosunku do osób z grupy kontrolnej [11].	Nieswoista aktywacja błon śluzowych i ogólnoustrojowej odpowiedzi immunologicznej. Aktywowanie odporności zależnej od receptora Toll-podobnego [9, 12, 13]. W przebiegu alergicznego nieżytu nosa BV powodował zmniejszenie objawów, zmniejszenie stężenia IL-4, IL-13, zwiększenie stężenia INF- γ , zmniejszenie liczby eozynofili [14]. Wykazuje działanie przeciwzapalne, reguluje odpowiedź Th1/Th2, zwiększa stężenie IL-10, zmniejsza stężenie IL-17 [15].	Zalecany schemat dawkowania obejmujący 3 kolejne miesiące: 1 kapsułka/saszetka na dobę na czczo przez 10 kolejnych dni w miesiącu.
Uro-Vaxom (UV)	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Escherichia coli</i> 	Ekstrakt bakteryjny UV składa się ze szczepów bakterii często biorących udział w patogenezie zakażeń układu moczowego. Wzmacnia odporność wrodzoną poprzez zwiększenie ilości neutrofilii i makrofagów, ich zdolności do fagocytozy oraz stymulacji komórek dendrytycznych [16-20]. Zmniejsza częstość epizodów zakażeń układu moczowego [21, 22-30].	Zwiększenie aktywności metabolicznej limfocytów krwi obwodowej, zmniejszenie samoistnej apoptozy neutrofilii polimorfojądrowych. Działanie immunomodulacyjne w drogach moczowych powoduje stymulację odpowiedzi odpornościowej i redukcję nadmiernego stanu zapalnego [32].	Schemat dawkowania w zapobieganiu zakażeniom dolnego odcinka układu moczowego: <ul style="list-style-type: none"> • 6 mg raz na dobę, • lek należy przyjmować przed posiłkiem, • czas leczenia: 90 dni (3 miesiące). Schemat dawkowania w leczeniu wspomagającym ostrych zakażeń: <ul style="list-style-type: none"> • 6 mg raz na dobę, • lek należy przyjmować przed posiłkiem, • lek należy stosować do ustąpienia objawów, nie krócej niż 10 dni, • lek można stosować w połączeniu z innymi lekami przeciwbakteryjnymi.
Luivac (LV)	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Staphylococcus aureus</i> • <i>Streptococcus pneumoniae</i> • <i>Streptococcus pyogenes</i> • <i>Streptococcus mitis</i> • <i>Haemophilus influenzae</i> • <i>Moraxella catarrhalis</i> • <i>Klebsiella pneumoniae</i> 	Aktywacja śluzówkowego układu odpornościowego. Wywołuje specyficzną i niespecyficzną odpowiedź immunologiczną. Zmniejszanie częstości epizodów infekcji dróg oddechowych i skrócenie czasu ich trwania [31].	Zmniejszenie masy biofilmu GAS. Bezpośredni wpływ LV na GAS może uzupełniać jego funkcję immunostymulacyjną, ponieważ biofilmy GAS mogą być związane z nawracającymi, opornymi na antybiotykoterapię infekcjami dróg oddechowych [33].	Schemat dawkowania dla dorosłych i dzieci powyżej 4. roku życia: <ul style="list-style-type: none"> • preparat należy przyjmować przez 28 kolejnych dni w dwóch cyklach oddzielnych od siebie 28-dniową przerwą, • tabletki należy połykać na czczo, popijając niewielką ilością płynu, • przyjmowanie LV rozpoczyna się zazwyczaj w okresie wolnym od infekcji, • w przypadku ostrej infekcji LV może być stosowany równocześnie z antybiotykami, lecz nie może zastąpić leczenia przeciwzapalnego.

1	2	3	4	5
Ribomunyl	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Streptococcus pneumoniae</i> • <i>Streptococcus pyogenes</i> • <i>Haemophilus influenzae</i> • <i>Klebsiella pneumoniae</i> 	<p>Przeprowadzono wiele podwójnie ślepych, kontrolowanych z placebo badań z użyciem immunostymulatora Ribomunyl u dorosłych. Częstość epizodów infekcji oraz liczba i czas trwania kuracji antybiotykowych uległy znacznemu zmniejszeniu w przypadku nawracających infekcji dróg oddechowych [34]. Zapobieganie nawrotom infekcji w POChP. Spadek częstości zapalenia ucha środkowego, zatok, błony śluzowej nosa i gardła [35, 36]. Zmniejszenie częstości nawracających infekcji ucha, nosa oraz gardła [37]. Frakcja <i>K. Pneumoniae</i> Ribomunylu została niedawno opisana jako silny stymulator TLR-2 o właściwościach adiuwanta w szczepionkach [38, 39]. Ponadto wykazano, że ten immunostymulant zwiększa produkcję różnych cytokin, takich jak: TNF-α, białko chemotaktyczne monocytów 1, IL-8 oraz IL-6, biorących udział w odpowiedzi zapalnej. Dowiedziono również, iż Ribomunyl indukuje produkcję INF-γ przez komórki NK [40]. Podobnie, jak inne immunostymulanty, jest w stanie wywołać niespecyficzną aktywację limfocytów T i B. W chorobach alergicznych wykazano regulujący wpływ na odpowiedź Th1/Th2 poprzez stymulację odpowiedzi Th1. Wykazano zmniejszenie wydzielania IgE [41-43].</p>	<p>Stymulacja obrony przeciwbakteryjnej, którą bezpośrednio podejmuje odporność wrodzoną. Stymulacja specyficznej odpowiedzi immunologicznej związanej z aktywacją komórek M i komórek dendrytycznych skupionych w MALT [42, 44, 45]. Stymulacja odporności związanej z komórkami fagocytarnymi [46], zwiększanie ekspresji cząsteczek adhezyjnych. Stymulacja odpowiedzi przeciwwirusowej poprzez stymulację dojrzewania komórek dendrytycznych do przetwarzania i prezentowania antygenów limfocytom T [41, 476]. Stymulacja produkcji IgA, hamujących adhezję bakterii do nabłonka [48,49].</p>	<p>Schemat dawkowania:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 1 saszетка raz dziennie przez 4 kolejne dni tygodnia przez 3 tygodnie, a następnie przez 4 pierwsze dni każdego miesiąca w okresie 2-5 miesięcy. • zawartość saszетки rozpuścić w wodzie.
Ismigen	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Staphylococcus aureus</i> • <i>Streptococcus pyogenes</i> • <i>Streptococcus (viridans) oralis</i> • <i>Klebsiella pneumoniae</i> • <i>Klebsiella ozaenae</i> • <i>Haemophilus influenzae</i> • <i>Neisseria catarrhalis</i> • <i>Streptococcus pneumoniae</i> 	<p>Stosowany w profilaktyce infekcji górnych dróg oddechowych oraz ciężkości zaostrzeń POChP [50, 51].</p>	<p>Aktywacja i wzmocnienie limfocytów B IgM pamięci oraz limfocytów wykazujących ekspresję receptora IL2, zaangażowanych w odporność humoralną lub komórkową [52].</p>	<p>Schemat dawkowania:</p> <ul style="list-style-type: none"> • raz dziennie przed posiłkiem przez 10 kolejnych dni w miesiącu przez trzy miesiące, • tabletkę umieścić pod językiem w celu jej rozpuszczenia.

1	2	3	4	5
Dukoral	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Vibrio cholerae</i> O1 <i>Inaba</i>, biotyp klasyczny (inaktywowany temperaturą) • <i>Vibrio cholerae</i> O1 <i>Inaba</i>, biotyp El Tor (inaktywowany formaliną) • <i>Vibrio cholerae</i> O1 <i>Ogawa</i>, biotyp klasyczny (inaktywowany temperaturą) • <i>Vibrio cholerae</i> O1 <i>Ogawa</i>, biotyp klasyczny (inaktywowany formaliną) • rekombinant toksyny B cholery. 	<p>Inaktywowana szczepionka doustna, składająca się z zabitych całych komórek <i>V. cholerae</i> O1 kilku szczepów (serotypów <i>Inaba</i> i <i>Ogawa</i>, biotypów klasycznych i El Tor) oraz oczyszczonej podjednostki B rekombinowanej cholery (WC/rBS). Ma na celu stymulację odporności antytoksynowej i antibakteryjnej przeciwko cholery. Indukuje ochronną odpowiedź antytoksyn IgA i odporność na same bakterie [53].</p>	<p>W ochronie przed biegunką wywołaną enterotoksycznymi szczepami <i>Escherichia coli</i> (ETEC) po szczepieniu pośredniczy specyficzna odporność na toksyny, a nie przeciwciała przeciwko komórkom bakteryjnym. Podobieństwa strukturalne między toksyną cholery i termolabilną toksyną ETEC wyjaśniają krzyżową ochronę przed tą ostatnią, która wynika z odpowiedzi immunologicznej na tę pierwszą. Szczepionka skuteczna w ochronie przeciwko ETEC, niezależnie od rodzaju wytwarzanej toksyny [54, 55].</p>	<p>Schemat dawkowania dla dzieci w wieku 2- 6 lat:</p> <ul style="list-style-type: none"> • szczepienie podstawowe obejmuje 3 dawki, które należy przyjąć doustnie w odstępie co najmniej 1 tygodnia, maksymalnie do 6 tygodni, • do granulatu należy dodać połowę ilości roztworu buforowego, • pierwszą dawkę należy podać dziecku nie później niż na 3 tygodnie przed planowanym rozpoczęciem podróży, • drugą dawkę należy podać co najmniej tydzień po podaniu pierwszej, • trzecią dawkę należy podać co najmniej tydzień po podaniu drugiej dawki i co najmniej na tydzień przed rozpoczęciem planowanej podróży, • w celu zapewnienia ciągłej ochrony zaleca się podanie dodatkowej dawki w ciągu 6 miesięcy, a jeśli minęło więcej niż 6 miesięcy, należy powtórzyć szczepienie podstawowe (3 dawki). <p>Schemat dawkowania dla dorosłych i dzieci powyżej 6 lat:</p> <ul style="list-style-type: none"> • szczepienie podstawowe obejmuje 2 dawki, które muszą być podane w odstępie co najmniej 1 tygodnia, maksymalnie 6 tygodni, • w celu zapewnienia ciągłej ochrony zaleca się podanie dodatkowej dawki w ciągu 2 lat, a jeśli minęło więcej niż 2 lata, należy powtórzyć szczepienie podstawowe (2 dawki).

1	2	3	4	5
Vivotif	<ul style="list-style-type: none"> • Żywe komórki <i>Salmonella enterica</i> serowar Typhi Ty21a 	Atenuowany szczep <i>Salmonella typhi</i> Ty21a jest głównym składnikiem preparatu – jedynej atenuowanej żywej doustnej szczepionki przeciw durowi brzuszemu [56]. Wskazany jest dla dorosłych i dzieci od 5. roku życia. Szczepienie jest szczególnie zalecane w wysoko rozwiniętych krajach dla grup ludności wysokiego ryzyka, a zwłaszcza dla osób, które podróżują do miejsc, gdzie ryzyko zarażenia się tyfusem jest wysokie. Szczepionkę można podawać również w profilaktyce przeciwmalarycznej.	Stymulacja mechanizmów miejscowej, komórkowej i ogólnoustrojowej odporności. Wykazano, że szczepionka wywołuje dobrą lokalną produkcję IgA przeciwko antygenowi O oraz indukuje dobrą humoralną i komórkową immunogenność przeciwko antygenowi O. Stymulacja wzrostu poziomu przeciwciał w surowicy. Stymulacja silnej ogólnoustrojowej odpowiedzi limfocytów T CD4+; dawki przypominające wywoływały znaczny wzrost poziomu przeciwciał IgG i IgA anty-LPS. Stymulacja wzrostu specyficznych plazmoblastów wyrażających receptory zasiedlające jelita (a437). Stymulacja wzrostu opsonofagocytozy przeciwko <i>S. typhi</i> i w mniejszym stopniu przeciwko <i>S. paratyphi</i> A i B.	Zalecany schemat dawkowania leku (pełen cykl szczepienia) składa się z trzech kapsułek: <ul style="list-style-type: none"> • jedną kapsułkę należy przyjmować co drugi dzień według schematu: pierwszą kapsułkę przyjąć wybranego dnia – jest to dzień 1., drugą kapsułkę przyjąć w dniu 3., trzecią kapsułkę przyjąć w dniu 5, • szczepienie należy ukończyć co najmniej jeden tydzień przed wyjazdem w rejon endemiczny, • po upływie 3 lat zaleca się przyjęcie szczepienia przypominającego – składa się ono z 3 kapsułek, które należy przyjmować zgodnie ze schematem szczepienia pierwotnego.

Moderna, Astra-Zeneca). Modułacja funkcji leukocytów wywołana działaniem ekstraktu bakteryjnego w szczepionce Broncho Vaxom (BV) może dawać korzystny efekt podczas infekcji koronawirusa, również ze względu na mechanizm pobudzenia układu immunologicznego.

Szczepionki bakteryjne mają nie tylko działanie ochronne przed infekcją, ale również mogą chronić przed rozwojem powikłań płucnych po COVID-19. Między innymi zaobserwowano wpływ modulacji na szlak genów odpowiedzialnych za wydzielanie i syntezę interferonu, które ma miejsce w trakcie leczenia Broncho-Vaxomem, zwiększenie klirensu wirusa i zwiększenie integralności płuc poprzez zwiększenie liczby makrofagów płucnych, co prowadzi do zwiększonego usuwania koronawirusa i zmniejszenia apoptozy zarówno komórek układu odpornościowego, jak i komórek układu oddechowego [61].

6. Nowe możliwości wykorzystania doustnych bakteryjnych preparatów immunologicznych w leczeniu wybranych chorób

Nadal nie wykorzystuje się wszystkich mechanizmów immunomodulacyjnych, w jakich działają szczepionki zawierające antygeny bakteryjne. Wiele z ich działań także nie zostało do końca poznanych. Sprawia to, iż nadal istnieje konieczność prowadzenia dalszych badań z wykorzystaniem tych preparatów i oceny ich skuteczności w różnych jednostkach chorobowych, a zwłaszcza tych, w których mechanizmy infekcyjne mają znaczący wpływ na powstanie lub progresję choroby, czy występowanie

jej zaostrzeń (np. POChP). Nadal też otwarte pozostaje pytanie o możliwości i skuteczność łączenia preparatów o immunomodulacyjnym działaniu z innymi lekami w tzw. terapii skojarzonej. Co ciekawe, w jednym z analizowanych do tego opracowania badań zwrócono uwagę na możliwości, jakie daje immunoterapia w leczeniu chorób układu sercowo-naczyniowego, które są jedną z najczęstszych przyczyn zgonów. Istnieje uzasadniona sugestia, że mechanizm działania szczepionek bakteryjnych w leczeniu miażdżycy mógłby opierać się głównie na ich działaniu przeciwzapalnym. Istnieją badania wykazujące, że efektem terapii doustnymi szczepionkami bakteryjnymi jest regulacja odpowiedzi immunologicznej Th1/Th2, wzmocnienie odpowiedzi Th2, zwiększenie wytwarzania IL-10, wykazującej działanie przeciwzapalne [15]. Skuteczność takiego działania w leczeniu miażdżycy została opisana w pracy Nilssona i Hanssona, w której zwrócono uwagę między innymi na duży potencjał immunizacji śluzówkowej w zapobieganiu miażdżycy [62]. Podobnie w badaniach na zwierzętach wykazano, że podawanie Broncho-Vaxomu zwiększa stężenia HDL [63].

Do innych pozytywnych następstw działania immunomodulacyjnego szczepionek bakteryjnych należy zaliczyć ich działanie antyoksydacyjne. Wykazano znaczący wzrost aktywności dysmutazy ponadtlenkowej i katalazy w płucach i erytrocytach oraz wzrost zawartości glutationu w erytrocytach po kuracji Broncho-Vaxomem. Nadal do końca nie wykorzystuje się efektu przeciwutleniającego terapii doustnymi szczepionkami bakteryjnymi. Mogłyby one mieć zastosowanie w leczeniu chorób, takich jak:

choroby neurodegeneracyjne (m.in. choroba Parkinsona, choroba Alzheimera), choroby układu sercowo-naczyniowego, takie jak miażdżyca czy nadciśnienie tętnicze, choroby nowotworowe czy również mogłyby znaleźć zastosowanie we wspomagającym leczeniu niektórych przyczyn niepłodności [64].

Istnieje wiele potencjalnych możliwości połączenia doustnych szczepionek immunologicznych z różnymi suplementami diety, np. połączenie doustnych szczepionek bakteryjnych o udowodnionym działaniu w terapii alergii [14, 15] z selenem, którego doustna suplementacja – jak dowodzą badania – może modulować reakcje alergiczne na białko serwatkowe [65]. Połączenie takie może wzmocnić efekt immunomodulacyjny i wywołać efekt synergiczny zastosowania obu preparatów. Poszerzenie wiedzy o działaniu immunologicznym lizatów bakteryjnych, stosowanych w doustnych szczepionkach, stwarza więc możliwość poszukiwania ich nowych zastosowań jako immunomodulatorów.

Wnioski

Szczepionki doustne wpływają na różne rodzaje komórek układu odpornościowego. Pod ich wpływem komórki żerne ulegają aktywacji, proliferują oraz dochodzi do stymulacji ich funkcji fagocytarnej. Ponadto preparaty te powodują zwiększoną ekspresję cząsteczek adhezyjnych na niektórych fagocytach, a także zmniejszenie apoptozy wśród neutrofilii. Podobnie jest w przypadku oddziaływania szczepionek doustnych na limfocyty, gdyż dochodzi do aktywacji, stymulowania namnażania, wzmocnienia regulacji ich funkcji immunologicznej, a także przywracania oraz utrzymywania stanu równowagi Th1/Th2 oraz CD4/CD8. Co więcej doustne szczepionki powodują aktywację i dojrzewanie komórek dendrytycznych krwi obwodowej oraz tych związanych z błoną śluzową. Doustne preparaty immunologiczne wykazują swoje działanie także w stosunku do wybranych białek układu odpornościowego m.in. stymulują wytwarzanie, a także przyczyniają się do optymalizacji stężenia obecnych już w surowicy krwi immunoglobulin IgG, IgA oraz IgM. Szczepionki doustne wpływają także na zwiększenie stężenia składowej C3 dopełniacza w surowicy krwi. Ponadto preparaty działają stymulująco na produkcję niektórych cytokin, takich jak: TNF- α (*tumor necrosis factor α* – czynnik martwicy nowotworów), białko chemotaktyczne monocytów, interleukin: IL-8, IL-6, IL-12. Co więcej szczepionki doustne silnie stymulują receptory Toll-podobne 2 (TLR-2) rozpoznające wzorce molekularne związane z patogenami. Podsumowując, istnieją liczne dowody, że doustna droga podaży substancji immunomodulujących umożliwia stymulację humoralnej oraz komórkowej odpowiedzi immunologicznej, nie tylko w miejscu kontaktu z błoną śluzową, ale także w miejscach odległych lub innych układach w organizmie a także stymulację ogólnoustrojowej odpowiedzi odpornościowej.

Efekty kliniczne stosowania szczepionek doustnych, jakie opisano w analizowanej literaturze, odnosiły się najczęściej do zapobiegania, zmniejszania częstości występowania, jak również skracania czasu trwania infekcji, w tym infekcji nawracających. W przypadku infekcji układu moczowego stosowanie doustnych preparatów immunologicznych ograniczało również częstość wystę-

powania zakażeń o ostrym przebiegu, a także było skuteczną strategią ich prewencji w grupach pacjentów wysokiego ryzyka (np. u ciężarnych). W odniesieniu do dróg oddechowych zastosowanie doustnych szczepionek immunologicznych okazało się skuteczne w leczeniu, zapobieganiu oraz zmniejszaniu częstości epizodów bakteryjnych a także wirusowych infekcji, redukując objawy, takie jak kaszel, gorączka, dreszcze czy bóle mięśni. Doustne szczepionki immunologiczne poprawiały skuteczność leczenia oraz zmniejszały ryzyko nawrotów oraz ciężkość przebiegu zapalenia ucha środkowego, zatok, a także błony śluzowej nosa i gardła, jak również dróg oddechowych ogółem. Dane z dostępnej literatury pozwalają również na stwierdzenie, że doustne szczepionki mogą mieć działanie wspomagające w leczeniu chorób alergicznych, m.in. alergicznego nieżytu nosa. Zastosowanie ich może łagodzić niektóre objawy jak swędzenie, wyciek z nosa oraz kichanie. Przyjmowanie doustnych preparatów ma też przełożenie na farmakoterapię, tj. skraca czas trwania antybiotykoterapii, obniża liczbę stosowanych antybiotyków, kuracji antybiotykowych, może eliminować konieczność stosowania kortykosteroidów lub umożliwia zmniejszenie ich dawki u pacjentów z zaostrzeniami PO-ChP, może też podnosić skuteczność leków stosowanych w rutynowej terapii. Stosowanie doustnych szczepionek immunologicznych w ocenie pacjentów przekładało się również na obniżenie wskaźników, takich jak: liczba dni w złym stanie zdrowia, dni hospitalizacji oraz dni absencji w szkole i pracy. Efekty kliniczne dotyczą zarówno osób dorosłych, dzieci, jak i niemowląt.

Podsumowując, dzięki modulacji odpowiedzi odpornościowej z układu MALT przez zastosowanie szczepionek doustnych aktywowana zostaje odpowiedź immunologiczna nie tylko w lokalnych, ale również dystalnych miejscach błony śluzowej a także odpowiedź ogólnoustrojowa. Szczepionki te pozwalają uzyskać odporność swoistą na patogeny bakteryjne będące składnikami szczepionek, a także odporność nieswoistą – w tym też przeciwwirusową – rozwiniętą w efekcie stymulacji innych mechanizmów w układzie MALT. W wielu omówionych badaniach wykazano szerokie spektrum korzyści, wynikających ze stosowania doustnych preparatów zawierających bakteryjne lizaty przy braku lub występowaniu tylko niewielkich skutków ubocznych. Dlatego też bardzo ważne jest poznanie i zrozumienie mechanizmów, w jakich doustne szczepionki zapewniają ogólnoustrojową odporność. Duże znaczenie dla przyszłej terapii częstych, powszechnych infekcji może mieć intensyfikacja badań nad śluzówkową, w tym doustną, drogą szczepień.

Piśmiennictwo

1. Brandtzaeg P, Function of mucosa-associated lymphoid tissue in antibody formation, *Immunol Invest*, 2010; 39 (4-5): 303-55. Erratum in: *Immunol Invest*, 2010; 39 (7): 780
2. Chase C, Kaushik R. S, Mucosal Immune System of Cattle: All Immune Responses Begin Here, *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, listopad 2019; 35 (3): 431-451
3. Pavot V, Rochereau N, Genin C, et al. New insights in mucosal vaccine development, *Vaccine*, styczeń 2012; 5; 30 (2): 142-54
4. Jakóbiśiak M, Układ odpornościowy związany z błonami śluzowymi, *Immunologia*, red. Gołąb J, Jakóbiśiak M, Lasek

- W, Stokłosa T, Wydaw. Naukowe PWN, Warszawa, 2014; 262-263
5. Vela Ramirez J. E, Sharpe L. A, Peppas N. A, Current state and challenges in developing oral vaccines, *Adv Drug Deliv Rev*, maj 2017; 15 (114): 116-13 Epub, 22 kwietnia 2017; Errata w: *Adv Drug Deliv Rev*, 3 września 2018; Errata w: *Adv Drug Deliv Rev*, 2020; 161-162: 190-196
 6. Yin J, Xu B, Zeng X, et al. Broncho-Vaxom in pediatric recurrent respiratory tract infections: a systematic review and meta-analysis, *Int Immunopharmacol*, 2018; 54: 198-209
 7. Koatz A. M, Coe N. A, Ciceran A, et al. Clinical and immunological benefits of OM-85 bacterial lysate in patients with allergic rhinitis, asthma, and COPD and recurrent respiratory infections. *Lung*, 2016; 194: 687-697
 8. Pan L, Jiang X. G, Guo J, et al. Effects of OM-85 BV in patients with chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review and metaanalysis, *J Clin Pharmacol*, 2015; 55: 1086-1092
 9. Kearney S. C, Dziekiewicz M, Feleszko W, Immunoregulatory and immunostimulatory responses of bacteria lysates in respiratory infections and asthma, *Ann Allergy Asthma Immunol*, 2015; 114: 364-369
 10. Gutierrez-Tarango M. D, Berber A, Safety and efficacy of two courses of OM-85 BV in the prevention of respiratory tract infections in children during 12 months, *Chest*, 2001; 119: 1742-1748
 11. Yin J, Xu B, Zeng X, et al. Broncho-Vaxom in pediatric recurrent respiratory tract infections: A systematic review and meta-analysis. *International Immunopharmacology*, 2018; 54: 198-209
 12. Collet J.P, Shapiro P, Ernst P, et al. Effects of an immunostimulating agent on acute exacerbations and hospitalizations in patients with chronic obstructive pulmonary disease, *Am J Respir Crit Care Med.*, 1997; 156: 1719-1724
 13. Luan H, Zhang Q, Wang L, et al. OM85-BV induced the productions of IL-1 β , IL-6, and TNF- α via TLR4- and TLR2-mediated ERK1/2/NF- κ B pathway in RAW267 cells, *J Interferon Cytokine Res.*, 2014; 34: 526-536
 14. Meng Q, Li P, Li Y, et al. Broncho-vaxom alleviates persistent allergic rhinitis in patients by improving Th1/Th2 cytokine balance of nasal mucosa, *Rhinology*, 1 grudnia 2019; 57 (6): 451-459
 15. Han R. F, Li H. Y, Wang J. W, et al. Study on clinical effect and immunologic mechanism of infants capillary bronchitis secondary bronchial asthma treated with bacterial lysates Broncho-Vaxom, *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, maj 2016; 20 (10): 2151-5
 16. Barclay J, Veeratterapillay R, Harding C, Non-antibiotic options for recurrent urinary tract infections in women, *BMJ*, 2017; 359: 5193
 17. Aziminia N, Hadjipavlou M, Philippou Y, et al. Vaccines for the prevention of recurrent urinary tract infections: a systematic review, *BJU Int*, 2019; 123 (5): 753-768
 18. O'Brien V. P, Hannan T. J, Nielsen H. V, et al. Drug and vaccine development for the treatment and prevention of urinary tract infections, *Microbiol Spectr*, 2016; 4 (1)
 19. Beerepoot M, Geerlings S, Non-Antibiotic Prophylaxis for Urinary Tract Infections, *Pathogens*, 2016; 5 (2): 36
 20. Huber M, Ayoub M, Pfannes S. D, et al. Immunostimulatory activity of the bacterial extract OM-8. *Eur J Med Res*, 2000; 5: 101-9
 21. Taha Neto K. A, Nogueira Castilho L, Reis L. O, Oral vaccine (OM-89) in the recurrent urinary tract infection prophylaxis: a realistic systematic review with meta-analysis, *Actas Urol Esp*, 2016; 40 (4): 203-208
 22. Beerepoot M. A, Geerlings S. E, van Haarst E. P, et al. Nonantibiotic prophylaxis for recurrent urinary tract infections: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials, *J Urol*, 2013; 190 (6): 1981-1989
 23. Bärtschi R, Balmer J, Eduah S. B, et al. Bacterial extract for the prevention of recurrent urinary tract infections in pregnant women: a pilot study, *Int J Immunother*, 2003; 19: 25-31
 24. Czerwionka-Szaflarska M, Pawłowska M, Influence of Uro-Vaxom on sIgA level in urine in children with recurrent urinary tract infections, *Arch Immunol Ther Exp*, Warszawa, 1996; 44 (2-3): 195-197
 25. Bonkat G, Pickard R, Bartoletti R, et al. Guidelines Associates: Pilatz A, Pradere B, Veeratterapillay R.: EAU Guidelines, Wydanie zaprezentowano na EAU Annual Congress, Kopenhaga, 2018
 26. Kranz J, Schmidt S, Lebert C, et al. The 2017 Update of the German Clinical Guideline on Epidemiology, Diagnostics, Therapy, Prevention, and Management of Uncomplicated Urinary Tract Infections in Adult Patients: Part 1, *Urol Int*, 2018; 100 (3): 263-270
 27. Tavares W, Lopes H. V, Castro R, et al. Cistite recorrente: tratamento e prevenção. *Diretrizes Clínicas na Saúde*, 31 stycznia 2011; https://diretrizes.amb.org.br/ans/cistite-recorrente-tratamento_e_prevencao.pdf
 28. Del Pilar Velázquez M, Romero Nava L. E, López de Avalos D. R, et al. Infección recorrente en las vías urinarias de la mujer (Clinical practice guidelines. Recurrent infection of the urinary tract in women, Colegio Mexicano de Especialistas en Ginecología y Obstetricia), *Ginecol Obstet Mex*, 2010; 78 (5): 437-459
 29. Perepanova T. S, The 2015 federal clinical guidelines for antimicrobial therapy and prevention of infections of the kidney, urinary tract, and male genitals, *Ter Arkh*, 2016; 88: 100-104
 30. Lee S. J, Choe H. S, Na Y.G, et al. 2017 Guidelines of The Korean association of urogenital tract infection and inflammation: recurrent urinary tract infection, *Urogenit Tract Infect*, 2017; 12: 7-14
 31. Jareoncharsri P, Bunnag C, Tunsuriyawong P, et al. An open-label, prospective study of an oral polyvalent bacterial lysate (Luivac) in the treatment of recurrent respiratory tract infections in Thai patients, *Asian Pac J Allergy Immunol*, 2003; 21 (4): 223-230
 32. Ortega Martell J. A, Naber K. G, Milhem Haddad J, et al. Prevention of recurrent urinary tract infections: bridging the gap between clinical practice and guidelines in Latin America, korekta publikacji pojawiła się w *Ther Adv Urol*, 5 lipca 2019; 11: 1756287219863170, *Ther Adv Urol*, 2019; 11: 1756287218824089
 33. Riani C, Standar K, Srimuang S, et al. Transcriptome analyses extend understanding of *Streptococcus pyogenes* regulatory mechanisms and behavior toward immunomodulatory substances, *Int J Med Microbiol*, 2007; 297 (7-8): 513-523
 34. Boyle P, Bellanti J. A, Robertson C, Meta-analysis of published clinical trials of a ribosomal vaccine (Ribomunyl) in prevention of respiratory infections, *BioDrugs*, 2000; 14: 389-408
 35. Gramiccioni E, Girbino G, Pelucco D, Efficacy and tolerability of Immucytal® in the prevention of upper respiratory tract infections: a randomized, placebocontrolled, double-blind study, *J Clin Res*, 2001; 4: 53-63
 36. Mora R, Barbieri M, Passali G, et al. A preventive measure for otitis media in children with upper respiratory tract infections, *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*, 2002; 63: 111-8

37. Giovannini M, Fiocchi A, Sala M, et al. Immucytal in the prevention and treatment of recurrent upper respiratory tract infections in children: a randomized, placebo-controlled, double-blind study, *Int J Immunother*, 2000; 16: 67-75
38. Jeannin P, Magistrelli G, Goetsch L, et al. Outer membrane protein A (OmpA): a new pathogen-associated molecular pattern that interacts with antigen presenting cells-impact on vaccine strategies, *Vaccine*, 2002; 20: A23-7
39. Jeannin P, Bottazzi B, Sironi M, et al. Complexity and complementarity of outer membrane protein A recognition by cellular and humoral innate immunity receptors, *Immunity*, 2005; 22: 551-60
40. Chalifour A, Jeannin P, Gauchat J. F, et al. Direct bacterial protein PAMPs recognition by human NK cells involves TLRs and triggers α -defensin production, *Blood*, 2004; 104: 1778-83
41. Jongmans W, Tiemessen D. M, van Vlodrop I. J i wsp. Th1-polarizing capacity of clinical-grade dendritic cells triggered by Ribomunyl but is compromised by PGE₂, *J Immunother*, 2005; 28: 480-7
42. Moine V, Corvaia N, Libon C, Inhibition of Immunoglobulin E synthesis by a membrane fraction from *Klebsiella pneumoniae* (FMKp), *Int J Immunother*, 2002; 18: 73-81
43. Bystron J, Hermanova Z, Szotkovska J, et al. Effect of ribosomal immunotherapy on the clinical condition and plasma levels of cytokines IL-4, IL-5, IL-12 and IFN- γ and total IgE in patients with seasonal allergy during the pollen season, *Clin Drug Invest*, 2004; 24: 761-4
44. Keating GM, Rotavirus vaccine (RotaTeq), *Paediatr Drugs*, 2006; 8 (3): 197-202, discussion 203-4
45. Nakagomi T, Nakagomi O, A critical review on a globally-licensed, live, orally-administrable, monovalent human rotavirus vaccine: Rotarix, *Expert Opin Biol Ther*, 2009 Aug; 9 (8): 1073-86
46. Roques C, Frayret M. N, Luc J, et al. Effect of an in vivo immunostimulant treatment on PMN functions: interaction with antibiotics in vitro, *Int J Immunopharmacol*, 1991; 13: 1051-7
47. Rossi M, Young J. W, Human dendritic cells: potent antigen-presenting cells at the crossroads of innate and adaptive immunity, *J Immunol*, 2005; 175: 1373-81
48. Zanin C, Perrin P, Bene M. C, et al. Antibody-producing cells in peripheral blood and tonsils after oral treatment of children with bacterial ribosomes, *Int J Immunopharmacol*, 1994; 16: 497-505
49. Bene M. C, Zanin C, Perrin P, et al. Specific antibody-producing cells in humans after oral immunization with a ribosomal vaccine Ribomunyl, *Adv Exp Med Biol*, 1995; 371B: 1563-6
50. Braido F, Melioli G, Cazzola M, et al. AIACE Study Group. Sub-lingual administration of a polyvalent mechanical bacterial lysate (PMBL) in patients with moderate, severe, or very severe chronic obstructive pulmonary disease (COPD) according to the GOLD spirometric classification: A multicentre, double-blind, randomised, controlled, phase IV study (AIACE study: Advanced Immunological Approach in COPD Exacerbation), *Pulm Pharmacol Ther*, sierpień 2015; 33: 75-80
51. Lanzilli G, Falchetti R, Tricarico M, et al. In vitro effects of an immunostimulating bacterial lysate on human lymphocyte function, *Int J Immunopathol Pharmacol*, kwiecień-czerwiec 2005; 18 (2): 245-54
52. Lanzilli G, Falchetti R, Cottarelli A, et al.: In vivo effect of an immunostimulating bacterial lysate on human B lymphocytes, *Int J Immunopathol Pharmacol*, lipiec-wrzesień 2006; 19 (3): 551-9
53. Clemens J. D, Sack D. A, Harris J. R, et al. Field trial of oral cholera vaccines in Bangladesh: results from a three-year follow-up, *Lancet* 14, 1986; 162-166
54. Lopez-Gigosos R, Garcia-Fortea P, Reina-Doña E, et al. Effectiveness in prevention of travelers diarrhea by an oral cholera vaccine WC/rBS, *Travel Med. Infect. Dis.* 5, 2007; 380-384
55. Peltola H, Siitonen A, Kyrönseppä H, et al. Prevention of travelers' diarrhea by oral B-subunit/whole-cell cholera vaccine, *Lancet* 338, 1991; 1285-1289
56. Gentschev I, Spreng S, Sieber H, et al. Vivotif--a «magic shield» for protection against typhoid fever and delivery of heterologous antigens, *Chemotherapy*, 2007; 53 (3): 177-80
57. Esposito S, Jones M H, Feleszko W, et al. Prevention of new respiratory episodes in children with recurrent respiratory infections: an expert consensus statement from the world association of infectious diseases and immunological disorders (Waidid), *Microorganisms*, 2020; 8 (11), 1810
58. Cardinale F, Lombardi E, Rossi O, et al. Epithelial dysfunction, respiratory infections and asthma: the importance of immunomodulation. A focus on OM-85, *Expert Review of Respiratory Medicine*, 2020; 14 (10), 1019-1026
59. Fang L, Zhou L, Tamm M, et al. OM-85 Broncho-Vaxom®, a Bacterial Lysate, Reduces SARS-CoV-2 Binding Proteins on Human Bronchial Epithelial Cells, *Biomedicines*, 2021; 9 (11), 1544
60. Cao C, Wang J, Li Y, Li Y, et al. Efficacy and safety of OM-85 in paediatric recurrent respiratory tract infections which could have a possible protective effect on COVID-19 pandemic: A meta-analysis, *International Journal of Clinical Practice*, 2021; 75 (5), e13981
61. Hohensinner P, Salzmann M, Wojta J, et al. Modulation of the innate and adaptive immune system during coronavirus infection, 2021
62. Hansson GK, Nilsson J, Developing a vaccine against atherosclerosis, *Nat Rev Cardiol*, 2020; 17, 451-452
63. Abdel-Moneim AME, Assessment Of Water Administration Of Bacterial Immunostimulant (Broncho-Vaxom®) On Performance, Blood Biochemical, Antioxidative Status And Humoral Immune Response Of Growing And Laying Japanese Quail, *Egyptian Poultry Science Journal*, 2020; 40 (1), 65-80
64. Liguori I, Russo G, Curcio, et al. Oxidative stress, aging, and diseases, *Clinical interventions in aging*, 2018; 13, 757
65. Zhao X, Thijssen S, Chen H, et al. Selenium Modulates the Allergic Response to Whey Protein in a Mouse Model for Cow's Milk Allergy, *Nutrients*, 2021; 13 (8), 2479