

# 轮状病毒与肠道菌群的相互作用

邝文涛<sup>1</sup>, 杨学磊<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>新疆医科大学研究生院, 新疆 乌鲁木齐

<sup>2</sup>新疆维吾尔自治区人民医院医学研究与转化中心, 新疆 乌鲁木齐

收稿日期: 2023年2月11日; 录用日期: 2023年3月7日; 发布日期: 2023年3月14日

## 摘要

轮状病毒是引起全球学龄前儿童急性腹泻的主要病原体, 过去的很多研究已经揭示了轮状病毒和肠道菌群之间存在一系列复杂的相互作用。轮状病毒感染会暂时改变肠道菌群的组成, 同时益生菌给药也可以改善患者的胃肠道症状。目前轮状病毒疫苗是预防轮状病毒感染的最有效手段。有研究表明肠道菌群对疫苗使用也会产生一定的影响。现对轮状病毒与肠道菌群相互作用及肠道菌群对轮状病毒疫苗有效性影响作一综述。

## 关键词

轮状病毒, 肠道菌群, 相互作用, 轮状病毒疫苗

# Interaction between Rotavirus and Intestinal Flora

Wentao Kuang<sup>1</sup>, Xuelei Yang<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Graduate School, Xinjiang Medical University, Urumqi Xinjiang

<sup>2</sup>Medical Research and Transformation Center, People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi Xinjiang

Received: Feb. 11<sup>th</sup>, 2023; accepted: Mar. 7<sup>th</sup>, 2023; published: Mar. 14<sup>th</sup>, 2023

## Abstract

Rotavirus is the main pathogen of acute diarrhea in preschool children all over the world. many previous studies have revealed a series of complex interactions between rotavirus and intestinal flora. Rotavirus infection temporarily changes the composition of intestinal flora, and probiotic administration can also improve gastrointestinal symptoms. At present, rotavirus vaccine is the

\*通讯作者 Email: yangxuelei08@sina.cn

most effective means to prevent rotavirus infection. Some studies have shown that intestinal flora can also have a certain impact on the use of vaccine. This paper reviews the interaction between rotavirus and intestinal flora and the effect of intestinal flora on the effectiveness of rotavirus vaccine.

## Keywords

Rotavirus, Intestinal Flora, Interaction, Rotavirus Vaccine

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

轮状病毒(Rotavirus, RV)感染是全球范围内 5 岁以下儿童重症腹泻的主要原因。自 1973 年 Bishop 等人报道 RV 感染是婴幼儿严重腹泻的病因学证据后[1], 一直没有找到有效的治疗药物, 临床上主要以对症治疗为主。现在有很多证据表明在 RV 腹泻中合理地使用肠道益生菌不仅可以改善患儿的腹泻症状、缩短病程[2] [3] [4] [5], 同时还可以影响宿主的免疫反应, 增加抗体产生[6] [7] [8]。接种疫苗是目前控制 RV 感染最有效的手段, 最近一些研究发现某些肠道菌群在调节 RV 疫苗反应中具有潜在作用[9] [10]。现就 RV 与肠道菌群的相互作用及肠道菌群对 RV 疫苗影响进行综述, 以期 RV 感染的防治提供新的策略。

## 2. 轮状病毒及其流行病学特征与预防现状

RV 属于呼肠孤病毒科轮状病毒属的双链无包膜 RNA 病毒, 基因组由 11 条双链 RNA 片段组成, 分别编码六个结构蛋白(VP1~VP4, VP6, VP7)和六个非结构蛋白(NSP1~NSP6)。完整的病毒颗粒呈直径约 70 nm 的二十面体结构, 由内衣壳、外衣壳和核心衣壳三层蛋白衣壳组成。VP6 是含量最丰富的结构蛋白, 根据 VP6 抗原性及序列的不同, 将 RV 分为 A~J 十个组, 其中 A、B、C 和 H 组可感染人类, 而 A 组又是引起儿童急性腹泻的主要病原体。根据 VP7 和 VP4 基因序列的差异, 又将 A 组 RV 分为 G 基因型(G 型)和 P 基因型(P 型)。目前人类主要流行 6 种 G 型(即 G1、G2、G3、G4、G9 和 G12)和三种 P 型(即 P [4]、P [6]和 P [8]), 其中的 G1P [8]、G2P [4]、G3P [8]、G4P [8]、G9P [8]和 G12P [8] 6 种基因型组合, 是导致全球 90%以上的儿童 A 组 RV 相关腹泻主要组合[11]。

RV 主要感染小肠绒毛顶端的肠细胞, 被感染的小肠上皮会发生微绒毛萎缩、脱落及细胞溶解死亡, 使肠道吸收功能下降而引起腹泻。典型的 RV 感染患者一般会经过 1~3 天的潜伏期, 然后突然发病, 病程一般为 3~8 天, 临床表现多样, 从一过性的稀便到严重的腹泻、呕吐都有可能, 如果治疗不及时可能会导致脱水、电解质紊乱、休克、甚至死亡[12]。该病毒主要通过粪-口途径传播, 也可通过呼吸道传播[13]。

据 Troeger 等人报道, 在 2016 年由 RV 感染引起的 5 岁以下儿童腹泻达到 2.58 亿人次, 其中死亡 12.85 万人次[14]。我国相关研究发现从 2005~2018 年, RV 感染性腹泻占 5 岁以下其他感染性腹泻(除霍乱、细菌性和阿米巴性痢疾、伤寒和副伤寒以外的感染性腹泻)总病例的 13.4%, 在这些报告的病例中 84.4%为小于 2 岁婴幼儿[15]。在 2003~2012 年间我国 5 岁以下儿童中有 12.75 万人死于腹泻, 其中约 42%死于 RV 感染[16]。

接种 RV 疫苗是预防儿童 RV 相关性腹泻最有效的方法。目前使用最多的疫苗是 Rotarix (葛兰素·史克 RV1, G1P [8])和 RotaTeq (默沙东 RV5, G1-G4, P [8])。在已经将 RV 疫苗接种纳入免疫计划的国家中, 5 岁以下儿童因 RV 感染而住院的比例下降 59%, 因 RV 导致的腹泻死亡人数下降了 36% [17]。但疫苗的保护效率会因国家和地区的经济不同而异, 在高收入和中等收入环境中 RV1 和 RV5 对严重 RV 腹泻具有很高的疫苗效力(85%~98%), 在非洲和亚洲的低收入国家和地区疫苗保护效力在 50%~64% [18]。我国 RV 感染具有不同于其他国家的特点, RV 疫苗在我国属于自愿自费接种的非免疫计划疫苗。我国目前使用的 RV 疫苗有两种, 一是 2001 年上市的兰州生物制品研究所生产的羊源 RV 疫苗(Lanzhou Lamb Rotavirus Vaccine, LLR, G10P [15]), 对于 RV 中重度胃肠炎(RVGE)的保护效果为 55%~74%, 对于 G3 型、G9 型的保护效果分别为 50%及 40% [19]。二是 2018 年上市的 RV5 RotaTeq®, 在我国 III 期临床试验显示对重症 RVGE 的保护效力为 78.9% [20], 安全性和保护效果有待进一步评估。

### 3. 肠道菌群

#### 1) 一般概念

人类的胃肠道有大量的微生物定植, 主要包括细菌、古细菌、真核生物和病毒等, 这些定植的微生物被统称为肠道微生物群。肠道微生物群主要由细菌组成, 其占比超过了 99% [21], 所以目前对于肠道微生物的研究基本也是以肠道细菌为主。肠道细菌不仅数量庞大, 而且在人体健康和疾病之间起着至关重要的调节作用。人类肠道内居住着大约  $10^{14}$  个微生物, 相当于人体细胞数量的 10 倍[22]。肠道微生物组生态系统中的细菌通过与我们的免疫系统连接和调节会帮助人体对抗感染和炎症。此外, 肠道内的细菌与炎症性肠病、肥胖、神经系统和精神疾病也存在一定的关系[23]。

#### 2) 与宿主的关系

肠道菌群与宿主之间的关系绝大部分是互利共生的。在与人类数百万年的共同进化中建立了一种相互作用的共生关系[24]。人类作为宿主为肠道细菌提供营养和栖息地, 肠道细菌会帮助人类降解无法消化的膳食纤维, 产生细胞代谢所需要的能量物质及调节肠道的运动。此外, 肠道菌群也具有促进细胞分化、调节宿主免疫作用[25] [26]。肠道黏膜屏障由肠道黏膜上皮细胞、抗菌因子和粘液层组成, 共生的肠道菌群会帮助维持肠上皮细胞的完整性, 并刺激肠上皮细胞分泌粘液和抗菌肽以达到抑制外来病原体感染, 从而有助于维持宿主肠道防御基础水平的稳定[27]。

#### 3) 与感染肠道病毒关系

当宿主肠道受到病毒感染时, 肠道中的益细菌的数量会减少, 而相对有害细菌的数量会增加, 这会导致正常的肠道菌群结构失衡, 从而引起或加重感染。常见可以感染肠道的病毒包括 RV、诺如病毒、腺病毒和星状病毒等。有研究表明肠道病毒感染时, 会把优势菌从拟杆菌门转换成厚壁菌门, 来改变宿主的肠道菌群结构, 同时也会造成肠道菌群多样性的减少。在病毒性腹泻患者肠道中发现, 机会性病原体(志贺氏菌属)会明显增加, 而其他共生的肠道微生物会显著减少[28]。有研究发现患有急性严重的病毒性胃肠炎的儿童, 其肠道菌群多样性会显著降低, 尤其是 RV 感染的患儿, 这进一步证明了肠道菌群与感染肠道的病毒之间存在着一定的相互作用[29]。

有些肠道益生菌具有抗病毒作用[30] [31], 研究发现四种乳酸杆菌菌株在和维生素 A 联合使用的情况下对鼠诺如病毒复制具有显著的抑制作用, 这种抑制是通过微生物群的变化而实现的, 尤其是乳酸杆菌菌株[30]。粘膜乳杆菌 1025 和短双歧杆菌 CCFM1026 具有改善小鼠甲型流感病毒感染的作用。粘膜乳杆菌 1025 会直接降低肺部病毒载量, 而这两种益生菌的混合使用会增加抗病毒蛋白 MxA 表达[31]。此外, 一些具有增强益生菌能量来源的食物, 通过与益生菌联合使用也可以达到增强益生菌抗病毒作用。例如, 通过给无菌猪喂食米糠 + 益生菌可以达到预防 RV 腹泻效果。研究结果表明益生菌的多种代谢物

具有改善肠道屏障功能、调节肠道免疫反应及抑制病毒复制作用[32]。

但肠道菌群对于病毒并不总是具有积极的作用。一些体外和动物实验研究显示肠道细菌在某些情况下会促进病毒感染肠道[33]。对于迄今为止在微生物环境中研究的所有肠道病毒,包括脊髓灰质炎病毒、呼肠孤病毒、肠道逆转录病毒和诺如病毒等,肠道细菌已被证明在病毒感染中具有刺激作用。有研究发现,肠道定植菌可以通过自身某些结构与病毒发生相互作用去促进病毒的感染,比如脊髓灰质炎病毒可直接与革兰氏阴性细菌外膜成分脂多糖(LPS)结合。脊髓灰质炎病毒与含脂多糖(LPS)或含有 N-乙酰葡萄糖胺的细菌多糖结合,这会增强病毒粒子的稳定,进而促进了病毒对环境适应[34] [35]。此外,细菌的脂多糖(LPS)还可以通过增加呼肠孤病毒的热稳定性来增强病毒感染细胞的能力[36]。

#### 4. 肠道菌群与轮状病毒的相互作用

##### 1) 肠道益生菌在轮状病毒感染的作用

随着人类对肠菌群重要性的认识不断加深,对其与各种病原体的相互作用日趋关注,发现肠道菌群对于 RV 感染的预防和治疗具有一定的积极作用。在乔治亚州立大学 Andrew Gewirtz 团队的一项研究中发现,分段丝状细菌(SFB)可以抵抗 RV 的感染,但其抗 RV 感染不依赖于免疫因子,如天然淋巴细胞、干扰素、IL-17 和 IL-22,它可是通过促进肠上皮细胞的增殖、迁移和脱落来抵抗 RV 感染[37]。肠道益生菌使用可以改善 RV 感染的强度和持续时间。在有关肠道益生菌给药治疗儿童 RV 感染的临床研究中,结果显示通过鼠李糖乳杆菌、布拉氏酵母菌和长双歧杆菌等益生菌给药可以减少 RV 的相关感染。比如,缩短腹泻持续时间、降低粪便中 RV 的水平[2] [3] [4] [5]。

在玻利维亚进行的一项随机、双盲、对照试验表明,益生菌给药可以明显缩短儿童因 RV 感染引起的腹泻和发热时间[38]。在另一项评估益生菌治疗幼儿 RV 感染性胃肠炎疗效的临床研究中发现,长双歧杆菌对 RV 感染显示出最大的抑制作用,而嗜酸乳杆菌显示出第二高的抑制作用,与安慰剂组相比这些益生菌使用后会显著缩短腹泻的持续时间[39]。此外,在另一项益生菌合剂(长双歧杆菌 BORI 和嗜酸乳杆菌 AD031)治疗婴幼儿 RV 感染的疗效评价的临床试验中,结果显示益生菌合剂治疗组患儿的腹泻病程、腹泻频率及呕吐次数明显低于安慰剂对照组[40]。

为评估鼠李糖乳杆菌(LGG)在治疗儿童 RV 急性胃肠炎的效果,在印度进行了一项随机、双盲、安慰剂对照临床试验,发现 LGG 治疗组的儿童肠道功能受损的比例及腹泻频率明显低于安慰剂对照组儿童[41]。然而,另一项在美国进行的 RV 疫苗应用后的前瞻性、随机、双盲试验中发现,鼠李糖乳杆菌组对比安慰剂组在腹泻持续时间、呕吐持续时间方面无显著差异,未能确定鼠李糖乳杆菌在保护儿童免受 RV 急性胃肠炎方面的保护作用[42]。

新生无菌猪在感染人类 RV 后表现出与儿童相似的腹泻、厌食、脱水、病毒血症和肠道损伤症状[43],所以新生无菌猪常被用于研究和测试肠道细菌在 RV 感染中如何作用的动物模型。有研究发现,移植健康婴儿肠道菌群的无菌猪相较于移植不健康婴儿肠道菌群的无菌猪,在 RV 感染后前者有较低发病率,其发病时间延迟,腹泻持续时间更短,累及的腹泻评分更低(腹泻评分  $\geq 2$  的猪被视为腹泻,粪便评分标准: 0 正常; 1 糊状; 2 半水状; 3 水状便) [44]。

将大肠杆菌 Nissle 1917、鼠李糖乳杆菌 GG、嗜酸乳杆菌和罗伊氏乳杆菌移植到新生无菌猪体内,研究肠道共生菌对人类 RV 感染的影响。其结果在总体上支持肠道菌群在缓解 RV 的感染症状及增强免疫反应方面具有积极作用[6] [7] [8]。把选定的鼠李糖乳杆菌和乳双歧杆菌 Bb12 定殖无菌猪后发现,这两种细菌不仅有助于宿主的免疫成熟、调节免疫稳态,还具有调节 RV 疫苗效应及 RV 的毒性效应的作用,这有助于缓解无菌猪的 RV 感染症状[45]。此外,在另一项对 RV 胃肠炎的研究中,发现鼠李糖乳杆菌具有防止部分回肠上皮损伤作用,这在一定程度上也会改善模型猪的腹泻症状[46]。大肠杆菌 Nissle 可以通

过增加肠上皮细胞和肠内分泌细胞的基因表达, 以维持肠道的吸收功能, 保护肠上皮免受损伤来维持肠道的吸收功能, 从而降低 RV 腹泻的严重程度[8]。

也有人使用 RV 腹泻小鼠模型去研究益生菌如何改善急性胃肠炎症状。研究人员用罗伊氏乳杆菌中的 1 株对被 RV 感染的小鼠进行治疗, 实验数据表明益生菌使用会增强肠上皮细胞增殖、绒毛再生及增加 RV 特异性抗体产生。这些作用有助于缓解腹泻、改善受累的肠道组织, 提高肠道益生菌的丰富性和多样性[47]。新生大鼠也被用作动物模型来研究鼠李糖乳杆菌对 RV 感染的影响, 在该研究中可观察到接受益生菌治疗的大鼠, 其肿胀的结肠会明显减轻, 结肠中的 RV 水平显著下降, 最后表明鼠李糖乳杆菌可以加快大鼠体内 RV 的清除[48]。

## 2) 肠道菌群增强宿主免疫对抗轮状病毒感染

一般认为免疫球蛋白 A (IgA) 是最丰富的黏膜抗体, 它们在维持肠道稳态方面具有重要的积极作用[49] [50]。有研究发现 IgA 缺失的小鼠会严重影响其对抗 RV 感染的能力, 会使 RV 感染清除延迟。而 IgA 功能正常的小鼠可以完全免受再次 RV 感染, 这些发现表明 IgA 在对抗 RV 的免疫力中发挥着关键作用[51]。

有研究发现使用罗伊氏乳杆菌和双歧杆菌会增加鼠轮状病毒菌株特异性抗体 IgA 水平, 这有助于减少小鼠的腹泻时间及改善肠道组织病理学症状[47] [52]。在人类肠道共生菌中卵形双歧杆菌, 可以通过依赖 T 细胞的 B 细胞激活途径在小鼠大肠中引发更多 IgA 产生去对抗 RV 感染[53]。单用短链低聚半乳糖和长链低聚果糖的益生元混合物或与短双歧杆菌 M-16V 一起使用, 会增强早期血清中抗 RV IgG 和肠道抗 RV IgA 的免疫反应, 同时也会增加 IL-4 和 IL-10 水平, 这有助于减轻动物模型中 RV 腹泻的严重程度、降低腹泻的持续时间以及病毒的脱落[54] [55] [56]。

肠道菌群对于肠道相关淋巴组织(GALT)的发育至关重要。肠道定植的菌群是宿主肠道上皮组织、免疫系统发育和成熟所必需的, 它们不仅可以促进肠道淋巴组织结构的发育、调节淋巴细胞群的活化和分化, 同时也可以平衡免疫球蛋白 A 和抗菌肽的产生, 这些对清除和对抗肠道病原体的感染有至关重要的作用[57]。有人通过在新生大鼠哺乳期补充短双歧杆菌 M-16V 菌株, 发现短双歧杆菌 M-16V 可以影响肠道及全身免疫区室的淋巴细胞组成, 能够改善生命早期肠道黏膜免疫力的发育, 同时也可以增强肠道黏膜抗体 IgA 合成[58]。

虽然目前尚不清楚肠道菌群究竟如何调节肠道免疫稳态, 但一些研究结果表明, 特定细菌种类存在是可以通过促进某些亚型淋巴细胞发育来改变免疫反应。例如, 分段丝状细菌(SFB)可以诱导小鼠细胞因子(IL-17、IL-22)和辅助性 T 淋巴细胞 17(Th17)的产生。细菌的某些成分可以作为免疫激活剂, 刺激免疫细胞产生对抗 RV 感染的细胞因子。同时细菌在肠道辅助性 T 淋巴细胞反应协调成熟中也起着重要作用, 这对于宿主抵抗肠道病原体侵袭和促进自身免疫反应具有非常重要意义[59] [60] [61]。

细菌鞭毛蛋白可作为先天免疫激活剂刺激免疫细胞产生免疫因子去对抗 RV 的感染。细菌鞭毛蛋白通过作用于树突状细胞上的人 Toll 样受体 5 (TLR5)产生细胞因子 IL-22, 促进道肠上皮细胞中保护性基因的表达, 同时鞭毛蛋白还可以诱导 NOD 样受体 C4 (NLRC4)介导细胞因子 IL-18 的产生, 以达到预防和清除 RV 的感染的作用[62]。目前 IL-22 已被证明对 RV 感染具有很强的抗病毒作用, 特别是与粘膜抗病毒细胞因子干扰素- $\lambda$  (IFN- $\lambda$ )组合[63]。

## 3) 肠道细菌在轮状病毒感染中的其他作用

有研究表明通过使用抗生素消融肠道菌群后可以降低小鼠的 RV 感染, 使腹泻的发生率和持续时间减少。与对照组相比, 被抗生素消融后的小鼠具有更高的抗 RV 抗体反应, 并且在小鼠体内检测到有更高的粪便 IgA、血清 IgA 和血清 IgG 水平。同时也发现无菌小鼠的血清抗 RV 抗体反应高于常规饲养的小鼠, 这一结果与抗生素消融后的小鼠具有更高抗 RV 抗体反应的结果保持一致[64]。鼠轮状病毒(MRV)感染新生小鼠, 通过诱导小肠中杯状细胞分泌粘蛋白, 导致回肠定植菌群组成发生显著变化, 这种成分变化有利于

粘蛋白降解细菌拟杆菌和嗜黏蛋白阿克曼菌(*Akkermansia*)生长,这反过来又可以在体外促进 RV 感染[65]。

#### 4) 肠道菌群对轮状病毒疫苗免疫原性的影响

基于目前肠道菌群与免疫系统发育的密切关系的认识,曾有专家提出所有疫苗的免疫反应可能会受到不同微生物谱调节的观点[66]。有研究发现,放线菌群尤其是双歧杆菌群的相对丰富度与口服及胃肠道外接种疫苗的多项反应指标呈正相关,包括对口服脊髓灰质炎病毒、卡介苗和破伤风类毒素的 T 细胞增殖反应[67]。那么口服 RV 疫苗是否也会与特定的肠道菌群有一定相关性呢?目前就该疑问已有很多研究者在该领域做了一些探索。

在巴基斯坦一项的病例对照研究中,分别比较了 10 名来自巴基斯坦 6 周龄的疫苗应答者,10 名相同周龄无应答者及 10 名来自荷兰的健康婴儿在疫苗接种前肠道菌群组成。对参加婴儿的肠道菌群进行比较后发现,疫苗免疫反应与革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌的比率的增加呈正相关,特别是沙雷氏菌及大肠杆菌相关的变形菌的丰富度增加了约 3 倍。将荷兰婴儿的肠道菌群与巴基斯坦无应答婴儿的肠道菌群进行比较后发现,荷兰婴儿的革兰阴性变形菌的丰度显著增加,其中包括与沙雷氏菌和大肠杆菌相关的细菌,研究结果表明肠道菌群组成与接种 RV 疫苗后的免疫球蛋白 A 的血清转化相关[68]。

此外,在加纳农村进行了一项相似的巢式病例对照研究中。在接种疫苗前同样分别比较了来自加纳农村应答者和无应答者及具有相同周龄的健康荷兰婴儿之间的肠道菌群组成,观察到应答者与无应答者之间的整体肠道菌群组成显著不同,应答者与荷兰婴儿的相似性高于无应答者,根据观察结果得到肠道菌群组成与 RV 疫苗免疫性显著相关,并可能会导致在发展中国家的 RV 疫苗免疫原性降低[69]。这些研究结果表明,肠道菌群组成与 RV 疫苗的免疫效价高低之间可能存在一定的相关性。

然而,在其他队列研究中,却未发现特定肠道菌群与血清转化相关。Fix 等人研究表明肠道定植菌群对婴儿 RV 疫苗的反应影响有限,这些差异在统计学上并不显著[70]。在印度进行的一项回顾性病例对照研究也显示出不同于在加纳农村的研究结果,该研究结果显示 RV 疫苗反应者与无反应者之间的肠道细菌组成没有显著差异,并分析了两次研究结果不同的原因,可能是由于方法学或基础微生物群组成的差异所导致,并指出仅依靠观察数据来确定肠道菌群与 RV 疫苗结果之间的相互作用机制,可能面临一定的困难[71]。

为了探究肠道菌群对于 RV 疫苗免疫反应的影响,Michael 等人进行了动物模型实验。研究结果显示,移植了人类婴儿肠道菌群的无菌猪相较于未定植的猪来说,在接种减毒人类 RV 疫苗后其肠道内总 IgM 免疫球蛋白分泌细胞及血液总 IgG 免疫球蛋白分泌细胞数量明显增加。而且在随后研究中也同样观察到,定植了人类婴儿粪便菌群的无菌猪,其血清中 RV 特异性的 IgG 相较于未定植的要高[72]。同时也有其他研究结果表明,移植了健康人类肠道菌群的无菌猪在接种 RV 疫苗后,相比移植不健康的人类肠道菌群的无菌猪而言,在其回肠、脾脏和血液中可以观察到有更多的产生 RV 特异性 IFN- $\gamma$  的 T 细胞,说明健康的肠道菌群组成会使 RV 疫苗介导的细胞免疫反应得到增强[44]。然而,在印度的一项针对印度婴儿的随机、析因设计、安慰剂对照研究的结果显示,补充锌或益生菌(鼠李糖乳杆菌 GG)并不能显著改善印度贫困城市婴儿的 RV 疫苗的低免疫原性[73]。

之前已经讨论过肠道菌群可以通过作用宿主的免疫去影响 RV 感染,过去的许多研究也表明细菌与宿主的免疫之间存在的复杂的联系,疫苗也是通过免疫系统才能发挥作用。所以肠道菌群、宿主免疫和 RV 疫苗之间存在一定的相互作用,但目前就肠道菌群于 RV 疫苗的影响和作用机制仍不清楚,在该领域仍需进一步研究。

## 5. 未来研究方向

目前很多研究表明肠道菌群与 RV 感染之间存在联系,并且对于 RV 感染的防治有着非常重要的作

用。肠道菌群对宿主的免疫系统的作用可能会影响 RV 疫苗的有效免疫反应,但它们之间相互作用的具体机制仍不清楚。探索肠道菌群及宿主之间存在的代谢组或代谢物组合,是如何调节 RV 感染及 RV 疫苗免疫原性将是未来研究的一个重要领域。我们接下来需要解决的问题包括:影响 RV 感染及 RV 疫苗反应的关键内源性细菌分类群是什么?这些关键菌群是通过具体那些机制如何发挥作用的?目前微生物群与各种疾病状态之间的联系是非常热门的研究领域,故在该研究领域可能存在各种不同的研究结果,值得注意的是,病毒与肠道菌群之间的关系仍处于探索阶段,它们之间很多相互作用机制目前仍不清楚,对于肠道菌群与 RV 的相互作用也是如此。因此,我们未来仍需要进行更多相关研究,为 RV 防控提供理论依据,发挥潜在的医学价值。

## 参考文献

- [1] Bishop, R.F., Davidson, G.P., Holmes, I.H. and Ruck, B.J. (1973) Virus Particles in Epithelial Cells of Duodenal Mucosa from Children with Acute Non-Bacterial Gastroenteritis. *The Lancet*, **2**, 1281-1283. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(73\)92867-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(73)92867-5)
- [2] Saavedra, J.M., Bauman, N.A., Oung, I., et al. (1994) Feeding of *Bifidobacterium bifidum* and *Streptococcus thermophilus* to Infants in Hospital for Prevention of Diarrhoea and Shedding of Rotavirus. *The Lancet*, **344**, 1046-1049. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(94\)91708-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(94)91708-6)
- [3] Fang, S.-B., Lee, H.-C., Hu, J.-J., et al. (2009) Dose-Dependent Effect of *Lactobacillus rhamnosus* on Quantitative Reduction of Faecal Rotavirus Shedding in Children. *Journal of Tropical Pediatrics*, **55**, 297-301. <https://doi.org/10.1093/tropej/fmp001>
- [4] Teran, C.G., Teran-Escalera, C.N. and Villarroel, P. (2009) Nitazoxanide vs. Probiotics for the Treatment of Acute Rotavirus Diarrhea in Children: A Randomized, Single-Blind, Controlled Trial in Bolivian Children. *International Journal of Infectious Diseases*, **13**, 518-523. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2008.09.014>
- [5] Huang, Y.-F., Liu, P.-Y., Chen, Y.-Y., et al. (2014) Three-Combination Probiotics Therapy in Children with Salmonella and Rotavirus Gastroenteritis. *Journal of Clinical Gastroenterology*, **48**, 37-42. <https://doi.org/10.1097/MCG.0b013e31828f1c6e>
- [6] Zhang, W., Azevedo, M.S.P., Gonzalez, A.M., et al. (2008) Influence of Probiotic Lactobacilli Colonization on Neonatal B Cell Responses in a Gnotobiotic Pig Model of Human Rotavirus Infection and Disease. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **122**, 175-181. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2007.10.003>
- [7] Kandasamy, S., Vlasova, A.N., Fischer, D., et al. (2016) Differential Effects of *Escherichia coli* Nissle and *Lactobacillus rhamnosus* Strain GG on Human Rotavirus Binding, Infection, and B Cell Immunity. *The Journal of Immunology*, **196**, 1780-1789. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1501705>
- [8] Paim, F.C., Langel, S.N., Fischer, D.D., et al. (2016) *Escherichia coli* Effects of Nissle 1917 and Ciprofloxacin on Small Intestinal Epithelial Cell mRNA Expression in the Neonatal Piglet Model of Human Rotavirus Infection. *Gut Pathogens*, **8**, 66. <https://doi.org/10.1186/s13099-016-0148-7>
- [9] Harris, V.C. (2018) The Significance of the Intestinal Microbiome for Vaccinology: From Correlations to Therapeutic Applications. *Drugs*, **78**, 1063-1072. <https://doi.org/10.1007/s40265-018-0941-3>
- [10] Magwira, C.A. and Taylor, M.B. (2018) Composition of Gut Microbiota and Its Influence on the Immunogenicity of Oral Rotavirus Vaccines. *Vaccine*, **36**, 3427-3433. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2018.04.091>
- [11] Crawford, S.E., Ramani, S., Tate, J.E., et al. (2017) Rotavirus Infection. *Nature Reviews Disease Primers*, **3**, 17083. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.83>
- [12] Donelli, G. and Superti, F. (1994) The Rotavirus Genus. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*, **17**, 305-320. [https://doi.org/10.1016/0147-9571\(94\)90050-7](https://doi.org/10.1016/0147-9571(94)90050-7)
- [13] Dennehy, P.H. (2015) Rotavirus Infection: A Disease of the Past? *Infectious Disease Clinics of North America*, **29**, 617-635. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2015.07.002>
- [14] Troeger, C., Khalil, I.A., Rao, P.C., et al. (2018) Rotavirus Vaccination and the Global Burden of Rotavirus Diarrhea among Children Younger than 5 Years. *JAMA Pediatrics*, **172**, 958-965. <https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2018.1960>
- [15] 骆洪梅, 冉陆, 孟玲, 连怡遥, 王丽萍. 2005-2018 年中国 5 岁以下轮状病毒腹泻报告病例流行特征分析[J]. 中华预防医学杂志, 2020, 54(2): 181-186. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2020.02.013>
- [16] Zhang, J., Duan, Z.J., Payne, D.C., et al. (2015) Rotavirus-Specific and Overall Diarrhea Mortality in Chinese Children

- Younger than 5 Years: 2003 to 2012. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, **34**, e233-e237. <https://doi.org/10.1097/INF.0000000000000799>
- [17] Burnett, E., Parashar, U.D. and Tate, J.E. (2020) Global Impact of Rotavirus Vaccination on Diarrhea Hospitalizations and Deaths among Children < 5 Years Old: 2006-2019. *The Journal of Infectious Diseases*, **222**, 1731-1739. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaa081>
- [18] Velasquez, D.E., Parashar, U. and Jiang, B.M. (2018) Decreased Performance of Live Attenuated, Oral Rotavirus Vaccines in Low-Income Settings: Causes and Contributing Factors. *Expert Review of Vaccines*, **17**, 145-161. <https://doi.org/10.1080/14760584.2018.1418665>
- [19] 刘娜. 轮状病毒胃肠炎的免疫预防[J]. 国际病毒学杂志, 2021, 28(2): 89-92. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.1673-4092.2021.02.001>
- [20] Mo, Z., Mo, Y., Li, M., et al. (2017) Efficacy and Safety of a Pentavalent Live Human-Bovine Reassortant Rotavirus Vaccine (RV5) in Healthy Chinese Infants: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Vaccine*, **35**, 5897-5904. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.08.081>
- [21] Guo, X.H., Okpara, E.S., Hu, W.T., et al. (2022) Interactive Relationships between Intestinal Flora and Bile Acids. *International Journal of Molecular Sciences*, **23**, 8343. <https://doi.org/10.3390/ijms23158343>
- [22] Qin, J.J., Li, R.Q., Raes, J., et al. (2010) A Human Gut Microbial Gene Catalogue Established by Metagenomic Sequencing. *Nature*, **464**, 59-65. <https://doi.org/10.1038/nature08821>
- [23] Bidell, M.R., Hobbs, A.L.V. and Lodise, T.P. (2022) Gut Microbiome Health and Dysbiosis: A Clinical Primer. *Pharmacotherapy*, **42**, 849-857. <https://doi.org/10.1002/phar.2731>
- [24] Lee, Y.K. and Mazmanian, S.K. (2010) Has the Microbiota Played a Critical Role in the Evolution of the Adaptive Immune System? *Science*, **330**, 1768-1773. <https://doi.org/10.1126/science.1195568>
- [25] Karst, S.M. (2016) The Influence of Commensal Bacteria on Infection with Enteric Viruses. *Nature Reviews Microbiology*, **14**, 197-204. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2015.25>
- [26] Milani, C., Duranti, S., Bottacini, F., et al. (2017) The First Microbial Colonizers of the Human Gut: Composition, Activities, and Health Implications of the Infant Gut Microbiota. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **81**, e00036-17. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00036-17>
- [27] Caricilli, A.M., Castoldi, A. and Câmara, N.O.S. (2014) Intestinal Barrier: A Gentlemen's Agreement between Microbiota and Immunity. *World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology*, **5**, 18-32. <https://doi.org/10.4291/wjgp.v5.i1.18>
- [28] Ma, C.F., Wu, X.K., Nawaz, M., et al. (2011) Molecular Characterization of Fecal Microbiota in Patients with Viral Diarrhea. *Current Microbiology*, **63**, 259-266. <https://doi.org/10.1007/s00284-011-9972-7>
- [29] Chen, S.-Y., Tsai, C.-N., Lee, Y.-S., et al. (2017) Intestinal Microbiome in Children with Severe and Complicated Acute Viral Gastroenteritis. *Scientific Reports*, **7**, Article No. 46130. <https://doi.org/10.1038/srep46130>
- [30] Lee, H. and Ko, G.P. (2016) Antiviral Effect of Vitamin A on Norovirus Infection via Modulation of the Gut Microbiome. *Scientific Reports*, **6**, Article No. 25835. <https://doi.org/10.1038/srep25835>
- [31] Kanmani, P., Albarracín, L., Kobayashi, H., et al. (2018) Exopolysaccharides from *Lactobacillus delbrueckii* OLL1073R-1 Modulate Innate Antiviral Immune Response in Porcine Intestinal Epithelial Cells. *Molecular Immunology*, **93**, 253-265. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2017.07.009>
- [32] Nealon, N.J., Yuan, L.J., Yang, X.D., et al. (2017) Rice Bran and Probiotics Alter the Porcine Large Intestine and Serum Metabolomes for Protection against Human Rotavirus Diarrhea. *Frontiers in Microbiology*, **8**, 653. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00653>
- [33] Peña-Gil, N., Santiso-Bellón, C., Gozalbo-Rovira, R., et al. (2021) The Role of Host Glycobiology and Gut Microbiota in Rotavirus and Norovirus Infection, an Update. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**, 13473. <https://doi.org/10.3390/ijms222413473>
- [34] Kuss, S.K., Best, G.T., Etheredge, C.A., et al. (2011) Intestinal Microbiota Promote Enteric Virus Replication and Systemic Pathogenesis. *Science*, **334**, 249-252. <https://doi.org/10.1126/science.1211057>
- [35] Robinson, C.M., Jesudhasan, P.R. and Pfeiffer, J.K. (2014) Bacterial Lipopolysaccharide Binding Enhances Virion Stability and Promotes Environmental Fitness of an Enteric Virus. *Cell Host & Microbe*, **15**, 36-46. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2013.12.004>
- [36] Berger, A.K., Yi, H., Kearns, D.B., et al. (2017) Bacteria and Bacterial Envelope Components Enhance Mammalian Reovirus Thermostability. *PLOS Pathogens*, **13**, e1006768. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006768>
- [37] Shi, Z.D., Zou, J., Zhang, Z., et al. (2019) Segmented Filamentous Bacteria Prevent and Cure Rotavirus Infection. *Cell*, **179**, 644-658.e13. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.09.028>



- [38] Grandy, G., Medina, M., Soria, R., *et al.* (2010) Probiotics in the Treatment of Acute Rotavirus Diarrhoea. A Randomized, Double-Blind, Controlled Trial Using Two Different Probiotic Preparations in Bolivian Children. *BMC Infectious Diseases*, **10**, 253. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-10-253>
- [39] Lee, D.K., Park, J.E., Kim, M.J., *et al.* (2015) Probiotic Bacteria, *B. longum* and *L. acidophilus* Inhibit Infection by Rotavirus *in Vitro* and Decrease the Duration of Diarrhea in Pediatric Patients. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology*, **39**, 237-244. <https://doi.org/10.1016/j.clinre.2014.09.006>
- [40] Park, M.S., Kwon, B., Ku, S., *et al.* (2017) The Efficacy of *Bifidobacterium longum* BORI and *Lactobacillus acidophilus* AD031 Probiotic Treatment in Infants with Rotavirus Infection. *Nutrients*, **9**, 887. <https://doi.org/10.3390/nu9080887>
- [41] Sindhu, K.N.C., Sowmyanarayanan, T.V., Paul, A., *et al.* (2014) Immune Response and Intestinal Permeability in Children with Acute Gastroenteritis Treated with *Lactobacillus rhamnosus* GG: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Clinical Infectious Diseases*, **58**, 1107-1115. <https://doi.org/10.1093/cid/ciu065>
- [42] Schnadower, D., Tarr, P.I., *et al.* (2018) *Lactobacillus rhamnosus* GG versus Placebo for Acute Gastroenteritis in Children. *The New England Journal of Medicine*, **379**, 2002-2014. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1802598>
- [43] Meurens, F., Summerfield, A., Nauwynck, H., *et al.* (2012) The Pig: A Model for Human Infectious Diseases. *Trends in Microbiology*, **20**, 50-57. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2011.11.002>
- [44] Twitchell, E.L., Tin, C., Wen, K., *et al.* (2016) Modeling Human Enteric Dysbiosis and Rotavirus Immunity in Gnotobiotic Pigs. *Gut Pathogens*, **8**, 51. <https://doi.org/10.1186/s13099-016-0136-y>
- [45] Vlasova, A.N., Chattha, K.S., Kandasamy, S., *et al.* (2013) Lactobacilli and Bifidobacteria Promote Immune Homeostasis by Modulating Innate Immune Responses to Human Rotavirus in Neonatal Gnotobiotic Pigs. *PLOS ONE*, **8**, e76962. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076962>
- [46] Liu, F., Li, G., Wen, K., *et al.* (2013) *Lactobacillus rhamnosus* GG on Rotavirus-Induced Injury of Ileal Epithelium in Gnotobiotic Pigs. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, **57**, 750-758. <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e3182a356e1>
- [47] Preidis, G.A., Saulnier, D.M., Blutt, S.E., *et al.* (2012) Host Response to Probiotics Determined by Nutritional Status of Rotavirus-Infected Neonatal Mice. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, **55**, 299-307. <https://doi.org/10.1097/MPG.0b013e31824d2548>
- [48] Ventola, H., Lehtoranta, L., Madetoja, M., *et al.* (2012) Effects of the Viability of *Lactobacillus rhamnosus* GG on Rotavirus Infection in Neonatal Rats. *World Journal of Gastroenterology*, **18**, 5925-5931. <https://doi.org/10.3748/wjg.v18.i41.5925>
- [49] Macpherson, A.J., Geuking, M.B. and McCoy, K.D. (2012) Homeland Security: IgA Immunity at the Frontiers of the Body. *Trends in Immunology*, **33**, 160-167. <https://doi.org/10.1016/j.it.2012.02.002>
- [50] Sutherland, D.B., Suzuki, K. and Fagarasan, S. (2016) Fostering of Advanced Mutualism with Gut Microbiota by Immunoglobulin A. *Immunological Reviews*, **270**, 20-31. <https://doi.org/10.1111/imr.12384>
- [51] Blutt, S.E., Miller, A.D., Salmon, S.L., *et al.* (2012) IgA Is Important for Clearance and Critical for Protection from Rotavirus Infection. *Mucosal Immunology*, **5**, 712-719. <https://doi.org/10.1038/mi.2012.51>
- [52] Qiao, H.P., Duffy, L.C., Griffiths, E., *et al.* (2002) Immune Responses in Rhesus Rotavirus-Challenged BALB/c Mice Treated with Bifidobacteria and Prebiotic Supplements. *Pediatric Research*, **51**, 750-755. <https://doi.org/10.1203/00006450-200206000-00015>
- [53] Yang, C., Mogno, I., Contijoch, E.J., *et al.* (2020) Fecal IgA Levels Are Determined by Strain-Level Differences in *Bacteroides ovatus* and Are Modifiable by Gut Microbiota Manipulation. *Cell Host & Microbe*, **27**, 467-475.e6. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.01.016>
- [54] Gandhi, G.R., Santos, V.S., Denadai, M., *et al.* (2017) Cytokines in the Management of Rotavirus Infection: A Systematic Review of *in Vivo* Studies. *Cytokine*, **96**, 152-160. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2017.04.013>
- [55] Rigo-Adrover, M., Saldaña-Ruiz, S., van Limpt, K., *et al.* (2017) A Combination of scGOS/lcFOS with *Bifidobacterium breve* M-16V Protects Suckling Rats from Rotavirus Gastroenteritis. *European Journal of Nutrition*, **56**, 1657-1670. <https://doi.org/10.1007/s00394-016-1213-1>
- [56] Rigo-Adrover, M.D.M., van Limpt, K., Knipping, K., *et al.* (2018) *Bifidobacterium breve* Preventive Effect of a Synbiotic Combination of Galacto- and Fructooligosaccharides Mixture with M-16V in a Model of Multiple Rotavirus Infections. *Frontiers in Immunology*, **9**, 1318. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01318>
- [57] Sommer, F. and Bäckhed, F. (2013) The Gut Microbiota—Masters of Host Development and Physiology. *Nature Reviews Microbiology*, **11**, 227-238. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2974>
- [58] Rigo-Adrover, M.D.M., Franch, À., Castell, M., *et al.* (2016) Preclinical Immunomodulation by the Probiotic *Bifidobacterium breve* M-16V in Early Life. *PLOS ONE*, **11**, e0166082. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0166082>

- [59] Wang, Y.L., Yin, Y.S., Chen, X., *et al.* (2019) Induction of Intestinal Th17 Cells by Flagellins from Segmented Filamentous Bacteria. *Frontiers in Immunology*, **10**, 2750. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02750>
- [60] Schnupf, P., Gaboriau-Routhiau, V., Sansonetti, P.J., *et al.* (2017) Segmented Filamentous Bacteria, Th17 Inducers and Helpers in a Hostile World. *Current Opinion in Microbiology*, **35**, 100-109. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.03.004>
- [61] Denning, T.L. and Sitaraman, S.V. (2010) Segmented Filamentous Bacteria Shape Intestinal Immunity. *Gastroenterology*, **139**, 351-353. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.05.032>
- [62] Zhang, B.Y., Chassaing, B., Shi, Z.D., *et al.* (2014) Viral Infection. Prevention and Cure of Rotavirus Infection via TLR5/NLRC4-Mediated Production of IL-22 and IL-18. *Science*, **346**, 861-865. <https://doi.org/10.1126/science.1256999>
- [63] Hernández, P.P., Mahlakoiv, T., Yang, I., *et al.* (2015) Interferon- $\lambda$  and Interleukin 22 Act Synergistically for the Induction of Interferon-Stimulated Genes and Control of Rotavirus Infection. *Nature Immunology*, **16**, 698-707. <https://doi.org/10.1038/ni.3180>
- [64] Uchiyama, R., Chassaing, B., Zhang, B.Y., *et al.* (2014) Antibiotic Treatment Suppresses Rotavirus Infection and Enhances Specific Humoral Immunity. *The Journal of Infectious Diseases*, **210**, 171-182. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiu037>
- [65] Engevik, M.A., Banks, L.D., Engevik, K.A., *et al.* (2020) Rotavirus Infection Induces Glycan Availability to Promote Ileum-Specific Changes in the Microbiome Aiding Rotavirus Virulence. *Gut Microbes*, **11**, 1324-1347. <https://doi.org/10.1080/19490976.2020.1754714>
- [66] Ferreira, R.B.R., Antunes, L., Caetano, M. and Finlay, B.B. (2010) Should the Human Microbiome Be Considered When Developing Vaccines? *PLOS Pathogens*, **6**, e1001190. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1001190>
- [67] Huda, M.N., Lewis, Z., Kalanetra, K.M., *et al.* (2014) Stool Microbiota and Vaccine Responses of Infants. *Pediatrics*, **134**, e362-e372. <https://doi.org/10.1542/peds.2013-3937>
- [68] Harris, V., Ali, A., Fuentes, S., *et al.* (2018) Rotavirus Vaccine Response Correlates with the Infant Gut Microbiota Composition in Pakistan. *Gut Microbes*, **9**, 93-101. <https://doi.org/10.1080/19490976.2017.1376162>
- [69] Harris, V.C., Armah, G., Fuentes, S., *et al.* (2017) Significant Correlation between the Infant Gut Microbiome and Rotavirus Vaccine Response in Rural Ghana. *The Journal of Infectious Diseases*, **215**, 34-41. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiw518>
- [70] Fix, J., Chandrashekar, K., Perez, J., *et al.* (2020) Association between Gut Microbiome Composition and Rotavirus Vaccine Response among Nicaraguan Infants. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, **102**, 213-219. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.19-0355>
- [71] Parker, E.P.K., Praharaj, I., Zekavati, A., *et al.* (2018) Influence of the Intestinal Microbiota on the Immunogenicity of Oral Rotavirus Vaccine Given to Infants in South India. *Vaccine*, **36**, 264-272. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.11.031>
- [72] Michael, H., Langel, S.N., Miyazaki, A., *et al.* (2020) Malnutrition Decreases Antibody Secreting Cell Numbers Induced by an Oral Attenuated Human Rotavirus Vaccine in a Human Infant Fecal Microbiota Transplanted Gnotobiotic Pig Model. *Frontiers in Immunology*, **11**, 196. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00196>
- [73] Lazarus, R.P., John, J., Shanmugasundaram, E., *et al.* (2018) The Effect of Probiotics and Zinc Supplementation on the Immune Response to Oral Rotavirus Vaccine: A Randomized, Factorial Design, Placebo-Controlled Study among Indian Infants. *Vaccine*, **36**, 273-279. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.07.116>