

Imunoestimulantes para a Prevenção das Infecções Respiratórias

Arturo Borzutzky e Rodrigo Hoyos-Bachiloglou

As infecções virais do trato respiratório superior englobam um enorme problema de saúde pública. Apenas o resfriado comum tem um custo estimado de 7,7 bilhões de dólares por ano nos Estados Unidos, tornando a busca por mecanismos para diminuir a sua incidência um assunto altamente relevante. Na prática diária, os médicos frequentemente se deparam com pacientes que se queixam do que consideram uma frequência elevada de infecções respiratórias e buscam uma maneira de diminuí-las, aumentando a função do seu sistema imunológico com imunoestimulantes.

Em termos gerais, os imunoestimulantes são definidos como substâncias naturais ou sintéticas que ativam o sistema imunológico induzindo um aumento na função de qualquer um dos seus componentes. Os imunoestimulantes podem ser divididos em duas categorias:

a) imunoestimulantes específicos são aqueles que criam imunidade aos antígenos de um modo específico. Esta classe de imunoestimulantes é composta principalmente por imunizações (vacinas) e é fortemente apoiada por evidência científica que sustentam a sua aplicação na população.

b) imunoestimulantes não específicos são aqueles que aumentam a atividade do sistema imunológico através de um antígeno não específico. Um exemplo claro deste grupo é o hidróxido de alumínio, um adjuvante que é amplamente utilizado na preparação de vacinas e é capaz de desencadear uma reação inflamatória não específica no local da inoculação que potencializa a resposta imune adaptativa. Imunoestimulantes não específicos são um grupo heterogêneo de substâncias naturais e artificiais que, devido aos seus efeitos antígeno não específicos, foram estudados e utilizados para diminuir as infecções respiratórias. Este capítulo se concentrará na revisão desta classe de imunoestimulantes.

Ao atender pacientes com infecções recorrentes, e antes de prescrever qualquer tipo de imunoestimulante, é de vital importância avaliar os fatores ambientais de risco (por exemplo, a exposição à fumaça de cigarro e outras fontes internas de poluição do ar), bem como doenças imunológicas e alérgicas que possam aumentar a susceptibilidade a infecções. É papel do médico procurar ativamente sintomas sugestivos de imunodeficiências primárias (**Tabela 1**), infecções respiratórias crônicas, como tuberculose, asma e rinite alérgica. A variação normal na incidência de infecções respiratórias virais deve ser levada em consideração, especialmente em lactentes e pré-escolares nos quais entre 5 e 10 infecções respiratórias por ano é considerado normal. Por último, as precauções

universais jamais deverão ser esquecidas a fim de reduzir a transmissão dos vírus respiratórios, sendo provavelmente a lavagem das mãos a medida mais custo-efetiva para prevenir infecções respiratórias virais.

Tabela 1. Sinais de alerta para imunodeficiência primária (IP) em crianças e adultos desenvolvida pela Fundação Jeffrey Modell

Crianças	Adultos
Quatro ou mais novas infecções de ouvido no prazo de um ano.	Duas ou mais novas infecções de ouvido no prazo de um ano.
Duas ou mais infecções graves das cavidades paranasais no prazo de um ano.	Duas ou mais novas infecções dos seios paranasais no prazo de um ano, na ausência de alergias.
Dois ou mais meses de antibióticos com pouco efeito.	Uma pneumonia por ano por mais de um ano
Duas ou mais pneumonias no prazo de um ano	Diarréia crônica com perda de peso.
A falha de ganho de peso ou crescer normalmente pelo lactente.	Infecções virais recorrentes (resfriados, herpes, verrugas, condilomas)
Abcessos profundos recorrentes da pele ou órgãos.	Necessidade recorrente de antibióticos intravenosos para curar infecções.
Aftas orais persistentes ou infecção fúngica na pele.	Abcessos profundos recorrentes da pele ou órgãos internos.
Necessidade recorrente de antibióticos intravenosos para curar infecções	Aftas ou infecção fúngica persistentes na pele ou em outros lugares
Duas ou mais infecções profundas, incluindo septicemia.	Infecção com bactérias pouco agressivas semelhantes à tuberculose
História familiar de Imunodeficiência Primária.	História familiar de Imunodeficiência Primária.

Nas próximas seções, vamos detalhar as características e as evidências científicas disponíveis sobre os estimulantes naturais e sintéticos mais comumente prescritos para a prevenção das infecções respiratórias.

1. *Echinacea purpurea*

O termo Equinacea corresponde a um grupo de nove plantas herbáceas e perenes nativas da América do Norte, que pertencem à família Asteraceae. Dentro das equinaceas, a *Equinacea purpúrea* (EP) tem sido a mais comumente utilizada para fins medicinais. Os efeitos da sua raiz, bem como das partes aéreas foram estudados, devido aos seus efeitos putativos no sistema imunológico, que contribuiria no combate a infecções virais respiratórias, tais como o resfriado comum e a gripe.

Os estudos em ratos têm sugerido que os extratos de EP administrados oralmente aumentam as contagens de glóbulos brancos e a concentração da interleucina 2 (IL-2) no sangue periférico ¹, aumentam a atividade dos fagócitos no baço

e pulmão, a produção de IL-2, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interferon gama (IFN- γ) por coestimulação **não específica** com a ionomicina ². A administração intraperitoneal de extratos de EP em ratos também demonstrou um aumento das células brancas do sangue, da atividade fagocítica e imunoglobulinas séricas em circulação ³. Os efeitos do EP sobre as células dendríticas foram avaliados *in vitro* com resultados contraditórios, encontrando-se efeitos imunoestimulantes ou imunossupressores conforme a utilização de extratos da raiz ou das folhas ⁴.

Vários estudos foram realizados recentemente em seres humanos para avaliar a eficácia da EP para prevenir infecções virais como o resfriado comum. No entanto, estes estudos diferem em grande parte sobre qual EP usar, a parte da planta a ser utilizada, os métodos de extração e o regime de administração do extrato. Até o momento, duas revisões sistemáticas (RS) foram realizadas sobre este tema e apresentaram resultados discordantes.

Shah *et al* realizaram uma meta-análise de nove estudos randomizados controlados (ERC), testados com placebo, que avaliou a eficácia dos extratos da EP na diminuição da incidência do resfriado comum ⁵. Os autores mostraram que o uso da EP diminuiu o risco de ter um resfriado comum em 58% (OR 0,42, IC 95% 0,25-0,71). Apesar do fato de que os estudos incluídos nesta revisão sistemática tiveram uma heterogeneidade significativa, todos concordaram com o efeito positivo da EP na redução da incidência do resfriado comum, mas não tanto na magnitude do efeito. No entanto, revisões sistemáticas recentes de Cochrane por Kirsch-Völk *et al* não encontraram efeito significativo do uso da EP ao analisar ensaios que utilizaram o mesmo componente da planta. No entanto, ao analisar em conjunto todos os ensaios que utilizaram a EP preventivamente, foi observada uma diminuição significativa nos episódios de resfriado comum em comparação com o placebo (RR 0,83, IC 95% 0,75-0,92), com uma redução de risco de 10% ⁶. Estas diferenças podem ser explicadas pela qualidade variável e alta heterogeneidade dos estudos incluídos em ambas as revisões sistemáticas. **Assim, novos estudos de boa qualidade metodológica e com extratos comparáveis de EP são necessários antes de se afirmar que ela pode ser recomendada para a prevenção do resfriado comum.**

2. Alho

Alho ou *Allium sativum* é uma planta da família das Amaryllidaceae que se originou na Ásia e é amplamente utilizado na medicina natural. Várias propriedades antibacterianas, antivirais e antifúngicas têm sido atribuídas ao alho ⁷⁻⁹. Em testes com murédeos, foi descrito que os extratos de alho são capazes de estimular a produção de IL-2, TNF- α e IFN- γ pelas células esplênicas, assim como impulsionam a atividade das células *natural killer* (NK), e a atividade fagocítica de macrófagos ¹⁰.

Um estudo randomizado controlado por placebo, publicado recentemente por Nantz *et al*, avaliou o efeito da suplementação com extratos de alho envelhecido por três meses, na função do sistema imunológico e na frequência do resfriado comum em 60 adultos saudáveis ¹¹. A função imune avaliada pela produção de IL-2 e TNF- α não variou significativamente entre os grupos de tratamento e de placebo mas, um aumento da proliferação de células NK e células T $\gamma\delta$ + foram

relatados no grupo suplementado com o extrato de alho. No entanto, este estudo não mostrou uma diferença significativa na incidência do resfriado comum entre os grupos, embora o grupo suplementado relatasse um menor número de dias e menor duração dos sintomas.

Lissiman *et al* realizaram uma série de revisões sistemáticas que avaliaram o uso do alho para a prevenção do resfriado comum. Infelizmente, apenas um estudo preencheu os critérios de inclusão propostos ¹². Neste estudo, 146 voluntários foram escolhidos aleatoriamente para receber placebo ou suplementos de alho e foram avaliados para o número de episódios de resfriado comum, bem como a gravidade e a duração dos sintomas. Os participantes que receberam suplementos de alho tiveram menos episódios de resfriado comum de forma significativa (OR 0,06; IC 95% 0,02-0,15; NNT 1,78) e relataram uma duração menor dos sintomas em comparação com o grupo placebo ¹³.

Embora os resultados pareçam promissores, à luz das informações disponíveis até o momento, estudos adicionais são necessários antes de se recomendar o uso de extratos de alho para a prevenção do resfriado comum.

3.- Zinco

O Zinco (Zn) é um elemento químico metálico de grande importância para o metabolismo, agindo como um cofator ou como parte do local ativo de várias enzimas, tanto em animais como em humanos. Ele desempenha um papel fundamental em diversos processos celulares, tais como a transdução de sinal, a transcrição e a replicação ¹⁴. O Zn é obtido da dieta através da ingestão de alimentos ricos em proteínas, como carnes e frutos do mar.

O papel desempenhado pelo zinco no sistema imunológico foi previamente descrito ¹⁵ como sendo altamente dependente para a sua função normal. Os mecanismos moleculares pelos quais o zinco afeta o sistema imunológico *in vitro* foram revistos por Rink *et al* ¹⁶.

A acrodermatite enteropática, uma doença que se caracteriza pela má absorção específica do zinco, é um exemplo clínico claro de como este está envolvido na fisiologia do sistema imune. Os pacientes com esta doença apresentam atrofia do timo e altas taxas de infecções bacterianas, virais e fúngicas que podem ser revertidas pela suplementação ¹⁷.

Devido às ações do Zn no sistema imunológico, o uso de suplementos como um imunoestimulante tem sido estudado para diminuir a taxa de infecções das vias respiratórias superiores. Infelizmente, os estudos realizados até o momento mostraram resultados conflitantes. Sing *et al*, realizaram uma revisão sistemática de estudos aleatórios que avaliaram o efeito da suplementação de zinco por 5 meses no risco de se ter um resfriado comum ¹⁸. Nesta revisão sistemática foram incluídos dois estudos clínicos, com um total de 394 participantes, e foi encontrada uma taxa de incidência de se desenvolver um resfriado comum de 0,64 (IC 95% 0,47-0,88), bem como uma redução significativa no absenteísmo escolar e na prescrição de antibióticos no grupo com o zinco. **No entanto, existem diferenças na formulação ou dosagens do zinco, que precisam ser padronizadas antes do seu uso generalizado como imunoestimulante, na prática clínica.**

4.- Vitamina C

A vitamina C (Vit C) ou ácido ascórbico é um nutriente essencial para vários processos metabólicos. Esta vitamina não pode ser sintetizada pelo corpo humano, de modo que deve ser obtida a partir de fontes alimentares tais como frutos cítricos. As principais ações biológicas do Vit C são como cofator antioxidante e enzimático.

O uso de Vit C para prevenir o resfriado comum está enraizado no público em geral desde a publicação dos estudos do Prêmio Nobel Linus Pauling em 1970. Numerosos estudos clínicos têm avaliado o papel da suplementação da Vit C tanto na prevenção como na gravidade dos sintomas do resfriado comum, dando origem a vários comentários sobre o assunto, todos apresentando resultados conflitantes.

Hemiliä *et al* realizaram revisões sistemáticas que compararam a suplementação de Vit C em doses superiores a 0,2 g com placebo¹⁹. Estas revisões sistemáticas, que incluíram 29 ensaios clínicos e 11.306 participantes, não foram capazes de demonstrar que o uso de suplementos de Vit C diminui a incidência do resfriado comum na população em geral (RR 0,97, IC 95% 0,94-1,0). No entanto, estudos realizados em maratonistas, esquiadores e soldados mostraram uma incidência menor com a Vit C do que o placebo (RR 0,48, IC 95% 0,35-0,64). Por isso, na população em geral, o efeito da Vit C para prevenir resfriados comuns seria na melhor das hipóteses uma redução na incidência anual do resfriado comum de 20 para 19 episódios por ano, um efeito tão insignificante que o uso de suplementos de Vit C para esse fim não parece para ser justificado.

À luz das evidências disponíveis até o momento, não é possível recomendar o uso rotineiro da **Vit C como imunoestimulante para prevenir infecções respiratórias, mas poderia ser útil em determinadas populações submetidas a exercício físico de alta demanda, e por períodos limitados de tempo.**

5.- Vitamina D

A vitamina D (Vit D) é um hormônio esteróide que pode ser sintetizado naturalmente pelo organismo na presença da luz solar e que desempenha um papel fundamental no metabolismo ósseo e outros sistemas biológicos. Nos seres humanos, as formas mais relevantes de Vit D são o colecalciferol (VD3) e o ergocalciferol (VD2). Cerca de 90% da Vit D é sintetizada na pele sob a forma de VD3 a partir de 7-desidrocolesterol e em presença de raios ultravioleta B, enquanto a VD2 é obtida a partir de fontes dietéticas. Subsequentemente, VD2 e VD3 devem ser hidroxiladas no carbono 25 no fígado e em carbono 1 no rim dando origem ao metabolito ativo conhecido como 1,25 dihidroxivitamina D ou calcitriol. O metabolito intermediário, gerado pela hidroxilação no fígado, 25 hidroxicolecalciferol (25OHD), pode ser medido no plasma e é utilizado internacionalmente para classificar indivíduos como Vit D suficiente (25OHD > 30 ng / ml), insuficiente (25OHD 20-30ng / ml) ou deficiente (25OHD < 20 ng / ml).

As funções e os estudos da Vit D foram tradicionalmente centrados no metabolismo do cálcio, no entanto, a Vit D é agora compreendida como uma substância pleiotrópica, com funções em vários sistemas diferentes, tais como os sistemas cardiovascular e imunológico²⁰. No que diz respeito as suas propriedades imunomoduladoras, tem sido demonstrado que a Vit D pode afetar a incidência de infecções respiratórias, uma vez que tem efeitos biológicos sobre o sistema

imunológico inato por induzir a produção de péptidos antimicrobianos tais como catelicidina, bem como efeitos sobre a função dos linfócitos B e T^{21, 22}.

O papel da Vit D no sistema imunológico também foi documentado no que diz respeito à susceptibilidade às infecções. As evidências mostram que os baixos níveis de Vit D aumentam o risco e a gravidade de infecções causadas por *Mycobacterium tuberculosis*, e, além disso, a suplementação com Vit D associada ao tratamento padrão com antimicrobianos pode facilitar a resolução e a negatização do escarro em pacientes com tuberculose²³. Em termos da função da Vit D na susceptibilidade às infecções respiratórias virais, estudos observacionais têm associado uma taxa maior de incidência nas estações que têm radiação ultravioleta inferior disponível para a síntese da Vit D^{24, 25} e demonstrou-se que pacientes que sofrem de raquitismo têm uma taxa maior de infecções respiratórias²⁶. Um estudo amplo que mostrou uma associação entre o estado corporal da Vit D e a frequência de infecções respiratórias deriva de uma análise secundária da *Third National Health and Nutrition Examination Survey* nos Estados Unidos (NHANES-III)²⁷. Neste estudo, após o ajuste para fatores clínicos (estação, índice de massa corporal, tabagismo, asma e doença pulmonar obstrutiva crônica) os pacientes com concentrações 25OHD <10 ng / mL tiveram uma chance de apresentar uma infecção respiratória de 1,36 vezes maior (OR 1,36; IC 95% 1,01-1,84) do que pacientes com 25OHD entre 10 e 30 ng / ml uma OR de 1,24 (IC 95% 1,07-1,43), em comparação com aqueles com 25OHD ≥ 30 ng / ml.

Devido às associações encontradas entre a deficiência de Vit D e infecções respiratórias, ensaios randomizados controlados por placebo foram realizados para avaliar o efeito da suplementação com Vit D sobre a incidência de infecções respiratórias. Os estudos realizados até à data variam em termos da dose de Vit D e o regime de suplementação. No entanto, dois estudos foram realizados que apoiam o uso da Vit D para a prevenção das infecções respiratórias: Charan *et al*²⁸ relataram uma OR de 0,58 (IC95% 0,41-0,81) e Bergman *et al*²⁹ relatam uma OR de 0,64 (IC 95 0,49-0,84%). As evidências apontadas nestes ensaios devem ser avaliadas com cautela, devido à heterogeneidade dos estudos e a chance de ocorrer o viés de publicação. Mao *et al*³⁰ realizaram recentemente uma outra revisão sistemática que não encontrou benefício da suplementação de VD na população em geral para a prevenção de infecções respiratórias.

Considerando-se as evidências atuais disponíveis, **são necessários ensaios aleatórios controlados adicionais para esclarecer a população-alvo, dosagem e regime de suplementação, antes que uma recomendação generalizada possa ser feita sobre a suplementação da VD para prevenção de infecções respiratórias**. No entanto, o seu uso pode ser recomendável nas populações de alto risco de deficiência de Vit D.

6.- Probióticos

Os probióticos são microrganismos não patogênicos vivos que podem ser tomados oralmente como um suplemento alimentar, podem ser recuperados vivos a partir das fezes, bem como aderir e residir na mucosa intestinal. Estes microrganismos, administrados em quantidades suficientes, podem ter efeitos benéficos para o organismo humano³¹.

Experimentos em ratos têm sugerido que o uso de probióticos tem efeitos imunoestimulantes e pode conferir resistência ao hospedeiro contra as infecções respiratórias^{32, 33}. Os probióticos podem ter ações imunoestimulantes sobre o sistema imunológico inato, impulsionar a atividade fagocítica, a expressão de receptores do complemento, bem como a atividade e o número de células *natural killer* em circulação³⁴⁻³⁷.

Hao *et al* realizaram uma revisão sistemática de 14 estudos controlados com um total de 3.451 participantes, que avaliaram o efeito do uso de qualquer probiótico (cepa única, combinação de cepas, qualquer dosagem, qualquer via de administração) por mais de sete dias contra placebo ou nada, sobre o número de infecções das vias respiratórias superiores e a sua duração³⁸. Nessas revisões sistemáticas o uso de probióticos mostrou-se melhor do que o placebo na prevenção de infecções do trato respiratório superior, com uma taxa de incidência de 0,88 (IC 95% 0,81-0,96), mas não foram encontradas diferenças em relação à duração da doença. **Devido às diferenças nas cepas probióticas utilizadas e as diferenças metodológicas entre os estudos que foram incluídos nas revisões sistemáticas de Hao *et al*, os resultados devem ser interpretados com cautela. Mais ensaios são necessários para discernir qual cepa utilizar, a dosagem e a duração do tratamento antes que os probióticos possam ser fortemente recomendados para a prevenção das infecções respiratórias.**

7.- Lisados bacterianos

Os lisados bacterianos são agentes imunoestimulantes que contêm frações liofilizadas de bactérias. O lisado bacteriano mais comum é OM-85V (Broncho-Vaxom®) que contém frações liofilizadas de *Haemophilus influenzae*, *Diplococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella ozaenae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus viridans* e *Moraxella catarrhalis*.

O mecanismo de ação desses imunoestimulantes parece estar relacionado com a estimulação do sistema imune inato, a secreção de citocinas pró-inflamatórias e a produção de espécies reativas de oxigênio *in vitro*³⁹. Estudos *in vivo* demonstraram que o OM-85BV é capaz de estimular as ações dos macrófagos, o recrutamento de células NK e estimular a produção de citocinas pró-inflamatórias IFN- γ , IL-2, IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α por monócitos e macrófagos, bem como aumentar a secreção de IgA pelas células residentes da mucosa respiratória⁴⁰.

Vários estudos clínicos têm avaliado a eficácia da administração de lisados bacterianos na incidência de infecções respiratórias. No entanto, **existe uma grande heterogeneidade entre a composição dos diferentes lisados bacterianos, regimes de administração e duração do tratamento, que dificultam a aplicação de seus resultados na prática clínica diária**, apesar das evidências em favor de seus benefícios potenciais. Del Río Navarro *et al*⁴¹ realizaram uma revisão sistemática para estudar o efeito dos lisados bacterianos na prevenção das infecções respiratórias. Esta revisão sistemática mostrou que os lisados bacterianos tais como o OM-85BV reduziu o número de infecções em 40% (IC 95 31,67 - 48,78) em comparação com o placebo e com uma heterogeneidade aceitável entre os estudos.

8.- Isoprinosina

A isoprinosina é uma combinação de inosina, acetamidobenzóico, dimetilamina e isopropanol que age como um estimulante dos linfócitos, da atividade das células NK e dos fagócitos *in vitro*. Devido às suas ações imunoestimulantes *in vitro*, a isoprinosina tem sido utilizada em alguns países como profilaxia das infecções respiratórias virais.

Litzman *et al* realizaram um estudo aleatório, duplo-cego, controlado por placebo sobre o uso de isoprinosina para a redução do número de infecções respiratórias em crianças com infecções respiratórias virais recorrentes⁴². Este estudo incluiu crianças que na temporada de inverno anterior tiveram pelo menos 5 episódios de infecção respiratória viral. Antes do início do teste, imunodeficiências primárias e autoimunidade foram descartadas. Os participantes receberam uma dose diária de 50 mg de isoprinosina ou placebo durante 6 semanas e, na sequência, 50 mg de isoprinosina ou placebo duas vezes por semana. Ao final do estudo, o número de infecções respiratórias foi registrado e as alterações em populações de linfócitos e marcadores de ativação de linfócitos foram avaliados. Após 12 semanas, não foram encontradas diferenças significante entre os grupos em termos de número de infecções respiratórias ou parâmetros imunológicos. **Atualmente não é recomendada a utilização de isoprinosina como imunoestimulante para prevenir infecções respiratórias.**

Conclusões

Apesar de um grande interesse em se encontrar substâncias que auxiliem na redução da taxa das infecções respiratórias na população e nas diversas alternativas que estão disponíveis no mercado, para a maioria delas ainda não há evidência científica sólida que apoie seus supostos efeitos clínicos. Existem muitas advertências sobre os estudos com imunoestimulantes para prevenir infecções respiratórias que dificultam a sua comparação: muitos têm erros metodológicos, diferem no tipo e característica do imunoestimulante, regime de tratamento ou população estudada. Assim, são necessários estudos randomizados, duplo-cegos, controlados por placebo, de alta qualidade antes que uma recomendação clara possa ser dada sobre a utilização de imunoestimulantes na prevenção das infecções respiratórias na população em geral. No entanto, estudos dos vários imunoestimulantes tais como zinco, alho, vitamina D, probióticos e os lisados bacterianos mostram a necessidade disto ser confirmado. É essencial que o clínico, antes de suplementar com qualquer imunoestimulante, exclua a presença de doenças que poderiam explicar as infecções respiratórias de repetição, e em caso de suspeita de anormalidades imunológicas, prontamente encaminhar o paciente para um especialista em alergia e imunologia.

Referências bibliográficas

1. Cundell DR, Matrone MA, Ratajczak P, Pierce JD, Jr. The effect of aerial parts of Echinacea on the circulating white cell levels and selected immune functions of the aging male Sprague-Dawley rat. *Int Immunopharmacol* 2003; 3:1041-8.
2. Goel V, Chang C, Slama J, Barton R, Bauer R, Gahler R, et al. Echinacea stimulates macrophage function in the lung and spleen of normal rats. *J Nutr Biochem* 2002; 13:487.

3. Sadigh-Eteghad S, khayat-Nuri H, Abadi N, Ghavami S, Golabi M, Shanebandi D. Synergetic effects of oral administration of levamisole and *Echinacea purpurea* on immune response in Wistar rat. *Res Vet Sci* 2011; 91:82-5.
4. Benson JM, Pokorny AJ, Rhule A, Wenner CA, Kandhi V, Cech NB, et al. *Echinacea purpurea* extracts modulate murine dendritic cell fate and function. *Food Chem Toxicol* 2010; 48:1170-7.
5. Shah SA, Sander S, White CM, Rinaldi M, Coleman CI. Evaluation of echinacea for the prevention and treatment of the common cold: a meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2007; 7:473-80.
6. Karsch-Volk M, Barrett B, Kiefer D, Bauer R, Ardjomand-Woelkart K, Linde K. Echinacea for preventing and treating the common cold. *Cochrane Database Syst Rev* 2014; 2:CD000530.
7. Ancri S, Mirelman D. Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Microbes Infect* 1999; 1:125-9.
8. Ruddock PS, Liao M, Foster BC, Lawson L, Arnason JT, Dillon JA. Garlic natural health products exhibit variable constituent levels and antimicrobial activity against *Neisseria gonorrhoeae*, *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis*. *Phytother Res* 2005; 19:327-34.
9. Weber ND, Andersen DO, North JA, Murray BK, Lawson LD, Hughes BG. In vitro virucidal effects of *Allium sativum* (garlic) extract and compounds. *Planta Med* 1992; 58:417-23.
10. Kyo E, Uda N, Suzuki A, Kakimoto M, Ushijima M, Kasuga S, et al. Immunomodulation and antitumor activities of Aged Garlic Extract. *Phytomedicine* 1998; 5:259-67.
11. Nantz MP, Rowe CA, Muller CE, Creasy RA, Stanilka JM, Percival SS. Supplementation with aged garlic extract improves both NK and gamma-delta-T cell function and reduces the severity of cold and flu symptoms: a randomized, double-blind, placebo-controlled nutrition intervention. *Clin Nutr* 2012; 31:337-44.
12. Lissiman E, Bhasale AL, Cohen M. Garlic for the common cold. *Cochrane Database Syst Rev* 2009:CD006206.
13. Josling P. Preventing the common cold with a garlic supplement: a double-blind, placebo-controlled survey. *Adv Ther* 2001; 18:189-93.
14. Coleman JE. Zinc proteins: enzymes, storage proteins, transcription factors, and replication proteins. *Annu Rev Biochem* 1992; 61:897-946.
15. Wellinghausen N, Rink L. The significance of zinc for leukocyte biology. *J Leukoc Biol* 1998; 64:571-7.
16. Rink L, Kirchner H. Zinc-altered immune function and cytokine production. *J Nutr* 2000; 130:1407S-11S.
17. Neldner KH, Hambidge KM. Zinc therapy of acrodermatitis enteropathica. *N Engl J Med* 1975; 292:879-82.
18. Singh M, Das RR. Zinc for the common cold. *Cochrane Database Syst Rev* 2011:CD001364.
19. Hemila H, Chalker E. Vitamin C for preventing and treating the common cold. *Cochrane Database Syst Rev* 2013; 1:CD000980.
20. Wolden-Kirk H, Gysemans C, Verstuyf A, Mathieu C. Extraskelatal effects of vitamin D. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2012; 41:571-94.
21. Wang TT, Nestel FP, Bourdeau V, Nagai Y, Wang Q, Liao J, et al. Cutting edge: 1,25-dihydroxyvitamin D3 is a direct inducer of antimicrobial peptide gene expression. *J Immunol* 2004; 173:2909-12.
22. Hewison M. Vitamin D and the immune system: new perspectives on an old theme. *Rheum Dis Clin North Am* 2012; 38:125-39.
23. Coussens AK, Wilkinson RJ, Hanifa Y, Nikolayevskyy V, Elkington PT, Islam K, et al. Vitamin D accelerates resolution of inflammatory responses during tuberculosis treatment. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012; 109:15449-54.
24. Cannell JJ, Vieth R, Umhau JC, Holick MF, Grant WB, Madronich S, et al. Epidemic influenza and vitamin D. *Epidemiol Infect* 2006; 134:1129-40.
25. Cannell JJ, Zaslaff M, Garland CF, Scragg R, Giovannucci E. On the epidemiology of influenza. *Virology* 2008; 5:29.
26. Muhe L, Lulseged S, Mason KE, Simoes EA. Case-control study of the role of nutritional rickets in the risk of developing pneumonia in Ethiopian children. *Lancet* 1997; 349:1801-4.
27. Ginde AA, Mansbach JM, Camargo CA, Jr. Association between serum 25-hydroxyvitamin D level and upper respiratory tract infection in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arch Intern Med* 2009; 169:384-90.
28. Charan J, Goyal JP, Saxena D, Yadav P. Vitamin D for prevention of respiratory tract infections: A systematic review and meta-analysis. *J Pharmacol Pharmacother* 2012; 3:300-3.
29. Bergman P, Lindh AU, Bjorkhem-Bergman L, Lindh JD. Vitamin D and Respiratory Tract Infections: A

- Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. PLoS One 2013; 8:e65835.
30. Mao S, Huang S. Vitamin D supplementation and risk of respiratory tract infections: a meta-analysis of randomized controlled trials. Scand J Infect Dis 2013; 45:696-702.
 31. Reid G, Jass J, Sebulsky MT, McCormick JK. Potential uses of probiotics in clinical practice. Clin Microbiol Rev 2003; 16:658-72.
 32. Yasui H, Kiyoshima J, Hori T. Reduction of influenza virus titer and protection against influenza virus infection in infant mice fed *Lactobacillus casei* Shirota. Clin Diagn Lab Immunol 2004; 11:675-9.
 33. Yasui H, Kiyoshima J, Hori T, Shida K. Protection against influenza virus infection of mice fed Bifidobacterium breve YIT4064. Clin Diagn Lab Immunol 1999; 6:186-92.
 34. Donnet-Hughes A, Rochat F, Serrant P, Aeschlimann JM, Schiffrin EJ. Modulation of nonspecific mechanisms of defense by lactic acid bacteria: effective dose. J Dairy Sci 1999; 82:863-9.
 35. Schiffrin EJ, Rochat F, Link-Amster H, Aeschlimann JM, Donnet-Hughes A. Immunomodulation of human blood cells following the ingestion of lactic acid bacteria. J Dairy Sci 1995; 78:491-7.
 36. Pelto L, Isolauri E, Lilius EM, Nuutila J, Salminen S. Probiotic bacteria down-regulate the milk-induced inflammatory response in milk-hypersensitive subjects but have an immunostimulatory effect in healthy subjects. Clin Exp Allergy 1998; 28:1474-9.
 37. Drakes M, Blanchard T, Czinn S. Bacterial probiotic modulation of dendritic cells. Infect Immun 2004; 72:3299-309.
 38. Hao Q, Lu Z, Dong BR, Huang CQ, Wu T. Probiotics for preventing acute upper respiratory tract infections. Cochrane Database Syst Rev 2011:CD006895.
 39. Mauel J, Van Pham T, Kreis B, Bauer J. Stimulation by a bacterial extract (Broncho-Vaxom) of the metabolic and functional activities of murine macrophages. Int J Immunopharmacol 1989; 11:637-45.
 40. Rozy A, Chorostowska-Wynimko J. Bacterial immunostimulants--mechanism of action and clinical application in respiratory diseases. Pneumonol Alergol Pol 2008; 76:353-9.
 41. Del-Rio-Navarro BE, Espinosa Rosales F, Flenady V, Sienna-Monge JJ. Immunostimulants for preventing respiratory tract infection in children. Cochrane Database Syst Rev 2006:CD004974.
 42. Litzman J, Lokaj J, Krejci M, Pesak S, Morgan G. Isoprinosine does not protect against frequent respiratory tract infections in childhood. Eur J Pediatr 1999; 158:32-7.