R.Barreto-H. Tajiri (GI Division, National Cancer Center East) F. Marotta – (GI Service, Krankenhaus S. Anna, Como, Italien) Y. Naito (Sumitomo Memorial Hospital, Nagoya, Japan) I. Rezakovic (SFJO & Labs, Paris, Frankreich) Y. Kato (Dept. Of pathology, Cancer Institute, Tokyo, Japan)

DURCH EINE FETTREICHE DIÄT INDUZIERTE IMMUNDEPRESSION: ERHÖHTER WIDERSTAND GEGENÜBER MIKROBIELLEN INFEKTIONEN DURCH EIN NEUES PROBIOTISCHES PRÄPARAT, MICROFLORANA-F.

Schlüsselwörter:

Microflorana^R – F Immunstimulation Retotheliales System

Wissenschaftliche Information für Fachkreise

In Auftrag gegeben durch:

Named Srl Via Lega Lombarda 33 20050 Lesmo – Mi Ric. 2023/3/99

In Deutschland veröffentlicht durch

und copyright by:

Medilyn Postfach

86946 Vilgersthofen

20L5001

Abstract

Zweck: Diese Studie hatte zum Zweck, die potentielle Heilwirkung eines komplexen probiotischen Präparats bei einer durch eine fettreiche Diät bedingten retothelialen Insuffizienz zu überprüfen.

Methodik: 182 "Swiss"-Mäuse wurden 10 Wochen lang folgendermassen ernährt:

- a) mit einer fettreichen und kohlenhydratarmen Diät (23% Sojaöl + Lebertran)
- b) mit einer Standarddiät.

In der neunten Woche wurden eine Woche lang oral Zusätze verabreicht, d.h. Microflorana-F (L. acidophilus, L. Helveticus, Bifidobacterium in einer mit Ionen und Vitaminen angereicherten Lösung, Named, Lesmo, Italien) oder dasselbe durch Wärmebehandlung inaktivierte Präparat.

Für die Zytogramm- und Phagozytprobe wurden Anteile peritonealer Makrophagen benutzt.

Die Anhäufung von Makrophagen in der Leber, welche mit "H-TdR" bezeichnet wurden, wurde nach 6, 12 und 24 h getestet. Darauffolgend wurde eine Probe i.p. sowohl mit P. aeruginosa als auch mit K. Pneumonia in der Konzentration LD_{30} durchgeführt und die Killeraktivität der peritonealen Makrophagen "in vivo" analysiert.

Ergebnisse: bei Gruppe A wurde ein beträchtlich niedrigerer Anteil an phagozytären Zellen festgestellt (p>0,05 vs. Gruppe B). Durch Microflorana hatten sich die zirkulierenden Antikörper (dreifach p< 0,001), die Zahl der peritonealen Makrophagen und die phagozytäre Aktivität (p<0,05 vs. Gruppe B; p<0,01 vs. inaktiviertem probiotischen Präparat) erheblich erhöht.

Nach 12 und 24 Stunden wies diese Gruppe eine grössere "H-TdR"-Aufnahme im Leber-DNA auf (p<0,005 vs. inaktiviertem probiotischen Präparat).

In beiden Gruppen konnte man pathogene Erscheinungen verzeichnen; die Sterblichkeitsrate nach 2 und 7 Tagen war in Gruppe A, im Vergleich zu Gruppe B (p<0,01), höher, aber dieser Unterschied hob sich auf, als den Mäusen Microflorana-F (p<0,01 vgl. inaktiviertes probiotisches Präparat) verabreicht wurde.

Schlussfolgerungen: diese Daten lassen darauf schliessen, dass ein wirksames, oral verabreichtes probiotisches Präparat der deletären, immundepressiven Auswirkung einer fettreichen Diät entgegentreten kann, wobei die den Wirt betreffende korrelative Aktivität der systemischen und organischen Resistenz verstärkt wird.

Einführung

Aus zahlreichen epidemiologischen Studien ging hervor, dass eine fettreiche Diät häufig mit Tumorkrankheiten (1-3) verbunden ist. Ausserdem führten verschiedene Experimentalstudien an, dass ein Defizit des retothelialen Systems möglicherweise einen der sich auslösenden pathogenetischen Mechanismen darstellen kann (4,5). Demzufolge haben experimentelle Erkenntnisse aufgezeigt, dass eine fettreiche Diät, im Gegensatz zu einer proteinreichen, die Widerstandsfähigkeit des Wirts gegenüber eventuell auftretenden Infektionen beeinträchtigen kann (6). Im letzten Jahrzehnt konnte man eine ansteigende Anzahl an Studien verzeichnen, welche hervorhoben, dass eine bestimmte Quantität nicht-pathogener Bakterien eine immunstimulierende Wirkung ausüben kann (7,9). Wenn auch in den meisten Experimenten die Bakteriensuspensionen parenteral verabreicht wurden (10-11), kann man dennoch davon ausgehen, dass die orale Verabreichung von probiotischen Präparaten, die mit der diätetischen Manipulation kombiniert werden, eine vorbeugende Funktion bei verschiedenen Krankheitserscheinungen einnehmen kann. Unsere Arbeit wollte festlegen, inwiefern ein neues probiotisches Originalpräparat den deletären, durch eine fettreiche Diät sich auslösenden immunsuppressiven Wirkungen entgegentreten kann.

Materialien und Methodik

Wir haben 182 vier Wochen alte "Swiss"-Mäuse benutzt, welche in zwei Gruppen, je nach diätetischer Behandlung, eingeteilt wurden: A) kohlenhydratarme und fettreiche Diät (23% der Gesamtdiät) und B) Standarddiät. Bei Behandlung A wurde in der neunten Woche der betreffenden Diät 1 Woche lang entweder 1 ml/Tag Microflorana-F (probiotisches Präparat, das L. acidophilus, L. helveticus und Bifidobacterium in einer mit Ionen und Vitaminen angereicherten Lösung enthält - Named srl Lesmo Italien) hinzugefügt, oder 1ml/Tag dasselbe probiotische Präparat, welches zuvor bei 90°C inaktiviert wurde, um Auswirkungen auszuschliessen, die von der Lösung selbst hervorgerufen

Experimentbeschreibung

werden können.

Zytogramm der peritonealen Zellen und Phagozytose-Test.

In der 9. und 10. Woche wurde eine peritoneale Spülung ausgeführt. Nach Festlegung der peritonealen Zellenanteile wurden diese durch mit Wärmebehandlung inaktiviertem Staphylococcus Aureus ausgebrütet. Die Makrophagenanteile wurden nach Inkubation auf ihre Migrationsfähigkeit getestet.

Markierung und Radiometrie der Hepatozyten

Die Markierung der DNA-Synthese der Hepatozyten wurde nach der "North"-Methode (12) ausgeführt, indem zur Probe intravenös S. tiphimurium verabreicht wurde.

Die Mäuse wurden mittels zervikaler Dislokation zu den folgenden Zeitpunkten geopfert: nach 0, 6, 12 und 24 Stunden.

Intraperitonealer Bakterientest und bakterizide Aktivität der peritonealen Zellen "in vivo".

Demselben, wie oben beschriebenen, Ablauf entsprechend (9. und 10. Woche bei Gruppe A und 10. Woche bei Gruppe B) wurde intraperitoneal eine Bakteriensuspension (0,1ml/10g Körpergewicht) von P. aeruginosa oder K. Pneumoniae verabreicht. Die bakterizide Aktivität "in vitro" wurde nach der "Watanabe"- und "Horikawa"-Methode (13) festgelegt. Die Überslebensrate wurde in der 7. Woche nach dem Test berechnet.

Konzentration von zirkulierenden Antikörpern.

Diese Konzentration wurde nach subkutaner Immunisierung mit roten Schafblutkörperchen festgelegt: bei Zeitpunkt O (9. Woche bei Gruppe A und B) und am 3., 7. und 14. Tag nach der 10. Woche, nachdem Microflorana-F oder das inaktivierte probiotische Präparat zusätzlich verabreicht worden waren.

Statistische Analyse

Bei Anwendung des T-Tests von "Student" wurden Differentialwerte unter 0,05% als relevant betrachtet.

TABELLE 1

ZYTOGRAMM UND PHAGOZYTOSETEST				
GRUPPE	Anzahl der peritonealen Zellen (x106)/ Maus)	Phagozytierende Zellen (%)	Ausbreitung (%)	
A (9. Woche)	1,2 ± 0,9	27,4 ± 3,4 *	21,4 ± 2,8	
B (10. Woche)	1,4 ± 0,5	51,1 ± 2,1	24,3 ± 3,1	
A + Microflorana (10. Woche)	4,2 ± 1,4 *	47,4 ± 2,3 *	41,1 ± 5,7 *	
A + inaktiviertes probiotisches Präparat (10. Woche)	1,3 ± 0,8	26,6 ± 3,1 *	22,8 ± 3,6	

* p < 0,05 Für Details siehe Text . Die Ergebnisse sind in Durchschnittswerten ± SD ausgedrückt.

Zytogramm und Phagozytose-Test.

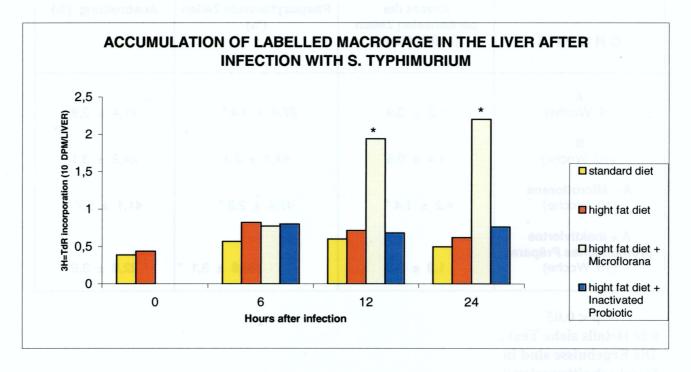
Die mit fettreicher Diät ernährten Mäuse haben, im Vergleich zu den mit Normaldiät ernährten, Normalwerte aufgezeigt; nur der Anteil an aktiv phagozytierenden Zellen (ability p<0.05 Tabelle 1) lag wesentlich niedriger. Im Gegensatz zum inaktivierten probiotischen Präparat und zur Normaldiät ist bei der Zusatzdät mit Microflorana-F der Anteil an aktiv phagozytierenden Zellen stark angestiegen, d.h. im Vergleich zur Gruppe A in der 9. Woche und zu der mit dem inaktivierten probiotischen Präparat behandelten Gruppe (p<0.05).

Markierung und Radiometrie der Hepatozyten.

Hinsichtlich der mit Standarddiät behandelten Mäuse haben die mit fettreicher Diät ernährten Tiere in der 9. Woche, nach Injektion von S. tiphimurium, eine beträchtlich reduzierte Aufnahmerate des im Hepazyten-DNA markierten Thymidins aufgezeigt (p<0,01 Abbildung 1).

Als dieser Versuch nach der Woche, in der auch Microflorana-F zusätzlich verabreicht worden war, wiederholt wurde, konnte man eine bemerkenswerte Erhöhung dieses Wertes beobachten (p<0,01 vs Standarddiät und vs fettreicher Diät mit inaktiviertem probiotischen Präparat).(Abbildung 1)

Abbildung 1



- * p < 0.01
- Siehe Text für Details

Intraperitonealer Bakterientest: bakterizide Aktivität der peritonealen Zellen "in vivo" und Überlebensrate.

Die fettreiche Diät hat effektiv di bakterizide Aktivität der peritonealen Zellen "in vivo" beseitigt.

Der Diätzusatz mit einem inaktivierten probiotischen Präparat hat dies nicht verändert (p>0.001 versus Standarddiät, Abbildung 2).

Im Gegensatz dazu hat die Verabreichung von Microflorana-F diesen Wert, der bei den beiden pathogenen Testgruppen gemessen wurde (p<0.05 vs Stabdarddiät), beträchtlich erhöht.

Wie auf Abbildung 3 angeführt, hatte sich die Überlebensrate bei den mit fettreicher Diät ernährten Mäusen (p<0.01) wesentlich verringert. Die darauffolgende, gleichzeitige Verabreichung von Microflorana-F hat, im Gegensatz zum inaktivierten Zusatzpräparat, die Überlebensrate auf Werte gebracht, die mit den Ergebnissen bei den mit Standarddiät ernährten Mäusen vergleichbar sind (p<0.01).(Abbildung 2 und Abbildung 3)

TABELLE 1

ZYTOGRAMM UND PHAGOZYTOSETEST				
GRUPPE	Anzahl der peritonealen Zellen (x106)/ Maus)	Phagozytierende Zellen (%)	Ausbreitung (%)	
A (9. Woche)	1,2 ± 0,9	27,4 ± 3,4 *	21,4 ± 2,8	
B (10. Woche)	1,4 ± 0,5	51,1 ± 2,1	24,3 ± 3,1	
A + Microflorana (10. Woche)	4,2 ± 1,4 *	47,4 ± 2,3 *	41,1 ± 5,7 *	
A + inaktiviertes probiotisches Präparat (10. Woche)	1,3 ± 0,8	26,6 ± 3,1 *	22,8 ± 3,6	

* p < 0,05 Für Details siehe Text . Die Ergebnisse sind in Durchschnittswerten ± SD ausgedrückt.

Zytogramm und Phagozytose-Test.

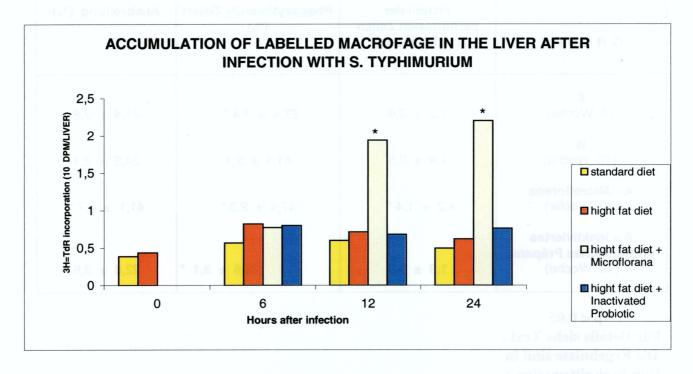
Die mit fettreicher Diät ernährten Mäuse haben, im Vergleich zu den mit Normaldiät ernährten, Normalwerte aufgezeigt; nur der Anteil an aktiv phagozytierenden Zellen (ability p<0.05 Tabelle 1) lag wesentlich niedriger. Im Gegensatz zum inaktivierten probiotischen Präparat und zur Normaldiät ist bei der Zusatzdät mit Microflorana-F der Anteil an aktiv phagozytierenden Zellen stark angestiegen, d.h. im Vergleich zur Gruppe A in der 9. Woche und zu der mit dem inaktivierten probiotischen Präparat behandelten Gruppe (p<0.05).

Markierung und Radiometrie der Hepatozyten.

Hinsichtlich der mit Standarddiät behandelten Mäuse haben die mit fettreicher Diät ernährten Tiere in der 9. Woche, nach Injektion von S. tiphimurium, eine beträchtlich reduzierte Aufnahmerate des im Hepazyten-DNA markierten Thymidins aufgezeigt (p<0,01 Abbildung 1).

Als dieser Versuch nach der Woche, in der auch Microflorana-F zusätzlich verabreicht worden war, wiederholt wurde, konnte man eine bemerkenswerte Erhöhung dieses Wertes beobachten (p<0,01 vs Standarddiät und vs fettreicher Diät mit inaktiviertem probiotischen Präparat).(Abbildung 1)

Abbildung 1



- *p < 0.01
- Siehe Text für Details

Intraperitonealer Bakterientest: bakterizide Aktivität der peritonealen Zellen "in vivo" und Überlebensrate.

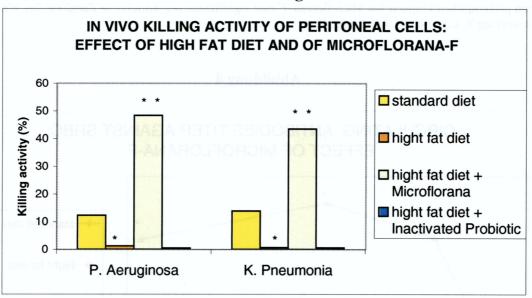
Die fettreiche Diät hat effektiv di bakterizide Aktivität der peritonealen Zellen "in vivo" beseitigt.

Der Diätzusatz mit einem inaktivierten probiotischen Präparat hat dies nicht verändert (p>0.001 versus Standarddiät, Abbildung 2).

Im Gegensatz dazu hat die Verabreichung von Microflorana-F diesen Wert, der bei den beiden pathogenen Testgruppen gemessen wurde (p<0.05 vs Stabdarddiät), beträchtlich erhöht.

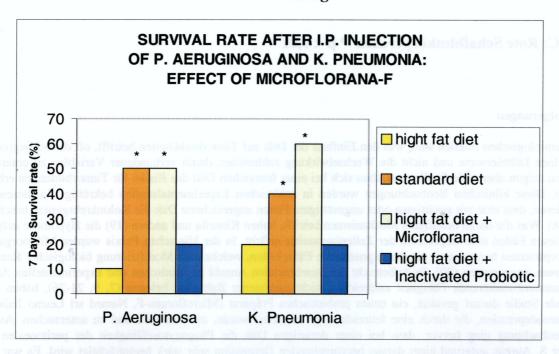
Wie auf Abbildung 3 angeführt, hatte sich die Überlebensrate bei den mit fettreicher Diät ernährten Mäusen (p<0.01) wesentlich verringert. Die darauffolgende, gleichzeitige Verabreichung von Microflorana-F hat, im Gegensatz zum inaktivierten Zusatzpräparat, die Überlebensrate auf Werte gebracht, die mit den Ergebnissen bei den mit Standarddiät ernährten Mäusen vergleichbar sind (p<0.01).(Abbildung 2 und Abbildung 3)

Abbildung 2



- * p < 0,01 vs Standarddiät
- ** p < 0,01 vs Standarddiät und inaktiviertes probiotisches Produkt

Abbildung 3



 p < 0,01 vs Gruppe mit fettreicher Diät, behandelt oder nicht behandelt mit inaktiviertem probiotischen Präparat.

Siehe Text f ür Details

Konzentration von zirkulierenden Antikörpern.

Zwischen den beiden behandelten Gruppen war kein bemerkenswerter Unterschied zu verzeichnen. Im Vergleich zum inaktivierten probiotischen Präparat hat Microflorana–F eine signifikante zeit-korrelative Zunahme des Wertes bewirkt, mit Spitzenwert am 7. Tag (p<0.01 Abbildung 4).

CIRCULATING ANTIBODIES TITER AGAINST SRBC: EFFECT OF MICROFLORANA-F 1400 1200 standard diet 1000 Antibody titer hight fat diet 800 600 hight fat diet + Microflorana 400 hight fat diet + Inactivated **Probiotic** 200 0 0 10 12 Days after SRBC injection

Abbildung 4

SRBC: Rote Schafblutkörperchen * p < 0,01

Schlussfolgerungen

Die epidemiologischen Studien sind, was den Einfluss der Diät auf Tumorkrankheiten betrifft, oft darauf begrenzt, nur die einzelnen Diätelemente und nicht die Wechselwirkung zahlreicher, damit verbundener Variablen zu untersuchen; inzwischen zeigen aber viele Studien auf, dass sich bei einer fettreichen Diät das Risiko für Tumorbildungen erhöht (1-3, 14-16). Diese klinischen Beobachtungen wurden in zahlreichen Experimentalstudien bekräftigt. In diesen wurde nachgewiesen, dass eine mit gesättigten oder ungesättigten Fetten angereicherte Diät die Kolonkrebsgenese beschleunigt (4.5,17,18). Was die daran beteiligten Mechanismen betrifft, haben Kinsella und andere (19) die Hypothese aufgestellt, dass in diesen Fällen eine Depression der Zellenimmunität auftritt. In der klinischen Praxis wurden Mikroorganismen bei Tumorpatienten heranzogen, um deren potentielle Fähigkeiten, welche eine Modifizierung biologischer Reaktionen einschliessen, auszunutzen (20). In Anbetracht der zunehmenden Anzahl an klinischen und experimentellen Arbeiten, die die immunstimulierende Fähigkeit zahlreicher, nicht-pathogener Bakterien belegen (7, 9, 21-26), haben wir die vorliegende Studie darauf gestützt, ein neues probiotisches Präparat (Microflorana-F, Named srl Lesmo Italien) mit einer Immundepression, die durch eine fettreiche Diät induziert wurde, zu verbinden und zu untersuchen. Aus einer ersten Beobachtung ging hervor, dass bei einer derartigen Diät die Phagozytosefähigkeit der peritonealen Zellen gegenüber S. Aureus aufgrund einer daraus hervorgehenden Depression sehr stark beeinträchtigt wird. Es war ebenso interessant zu beobachten, dass Microflorana-F eine bemerkenswerte Erhöhung der peritonealen Zellen und der Migrationsfähigkeit der Makrophagen mit sich brachte. Vor allem der letztgenannte Wert hatte sich, im Vergleich zu den Werten bei den mit Standarddiät ernährten Mäusen, erhöht und stimmte mit der darauffolgenden Beobachtung, die eine erhöhte Chemotaxis im Leberbereich verzeichnete, überein; diese genaue Methodik (27) berücksichtigt die Aufnahme von Thymidin im Leber-DNA. Die Abnahme der durch die Diät induzierten phagozytären Kapazität wurde damit verbunden, dass die bakterizide Aktivität in vivo, im Vergleich zu den beiden pathogenen Testgruppen, beseitigt und, demzufolge, die Überlebensrate reduziert wurde. Microflorana-F hat in seiner aktiven Form, d.h. im Gegensatz zu seiner inaktiven Form, aufgezeigt, dass den deletären Auswirkungen der Diät auf die bakterizide Kapazität der peritonealen Zellen vorgebeugt und zudem diese Kapazität wesentlich erhöht werden kann; dies belegen vor allem die Beobachtungen, die bei den normal ernährten Mäusen (p<0.01) angestellt wurden. Was die biohumoralen Aspekte anbelangt, hat die Diät nicht die Konzentration der zirkulierenden Antikörper beeinflusst; das Zusatzpräparat Microflorana-F hingegen hat eine dreifache Erhöhung bewirkt, was durch verschiedene experimentelle (8, 28) und klinische Daten (26) nachgewiesen werden kann. Seit kurzem geht man ebenso davon aus, dass die Milchsäurebakterien nicht nur die nicht-spezifischen Abwehrmechanismen steigern, sondern ebenso einen Schutzeffekt ausüben, was experimentell induzierte Infektionen bei Mäusen belegen (13, 24, 29-31). In fast all diesen Studien wurden die Bakteriensuspensionen zu therapeutischen Zwecken parenteral und nicht-immunkomprimierten Tieren verabreicht. In der klinischen Praxis ist eine fettreiche Diät mit einem erhöhten Risiko für Pathologien, die durch Immunschwäche-Mechanismen hervorgerufen werden, verbunden. Beim aktuellen Stand der medizinischen Kenntnisse stellt diese Studie die erste Arbeit dar, die sich experimentell mit dieser Thematik beschäftigt und eine ausführbare Korrektur mittels oraler Verabreichung eines probiotischen Präparats vorschlägt.

Bibliographie

- 1) Rose DP, Boyar AP, Wynder EL. International comparison of mortality rates for cancer of the breast, ovary, prostate and colon and per capita food consumption. Cancer 1986; 58:2363-2369.
- 2) Hursting S, Thomquist M, Henderson MM. Types of dietary fat and the incidence of cancer at five sites. Prev Med 1990; 19:242-253.
- 3) Andreus FJ, Blake DR, Moris CJ. Iron and joint inflammation. In: Iron in immunity, cancer and inflammation. Sousa M and Brocks JH (eds), John Wiley and Sons, Chicester, UK, p145-175, 1988.
- 4) Nigro ND, Singh DV, Campbell RL, Sook M. Effect of dietary beef fat on intestinal tumor formation by
- azoxymethane in rats. J Natl Cancer Inst 1975; 54:439-443.
- 5) Clinton SK, Li PS, Mulloy AL, Wisek WJ. The combined effects of dietary fat and estrogen on survival, 7,12-dimethylbenz- anthracene-induced 1995; 125:1192-1205.
- 6) Watanabe T, Ishiki H, Yatani R. Resistance to opportunistic infections in mice fed a high fat diet and fatty acid- compositions in their livers. Mie Med J 1985; 35:95-100.
- 7) Nanno M, Shimizu-Takeda T, Mike A, Ohwaki M, Togashi Y, Suzuki R, Kumagai K, Mutai M. Increased production of cytotoxic macrophage progenitors by

Lactobacillus casei in mice. J Leukoc Biol 1989; 46:89-95.

- 8) Perdigon G, de Macias ME, Alvarez S, Oliver G, de Ruiz Holgado AP. Systemic augmentation of the immune response in mice by feeding fermented milks with Lactobacillus casei and Lactobacillus acidophilus. Immunology 1988; 63:17-23.
- 9) Conge GA, Gouache P, Desormeau-Bedot JP, Loisillier F, Lemonnier D. Effects comparés d'un regime enrichi en yoghourt vivant ou thermisé sur le système immunitaire de la souris. Repr Nutr Dev 1980; 20:929-937.
- 10) Sato K, Saito H, Tomioka H. Enhancement of host resistance against Listeria infection by Lactobacillus casei: activation of liver macrophages and peritoneal macrophages by Lactobacillus casei. Microbiol Immunol 1988; 32:689-698.
- 11) Wheeler JG, Shema SJ, Bogle ML, Shirrell MA, Burks AW, Pittler A, Helm RM. Immune and clinical impact of Lactobacillus acidophilus on asthma. Ann Allergy Asthma Immunol 1997; 79:229-233.
- 12) North RJ. The relative importance of blood monocytes and fixed macrophages to the expression of cell-mediated immunity to infection. J Exp Med 1970; 132:521-524.
- 13) Watanabe T, Horikawa Y. Effects of lactobacillus casei on Pseudomonas aeruginosa infection in normal and dexamethasone- treated mice. Microbiol Immunol 1986; 30:249-259.
- 14) Knox EG. Food and diseases. Br J Prev Soc Med 1977; 31:71-79.

- 15) Greenberg MR. Changing cancer mortality patterns in urban and rural America, 1950-1975. New York: Oxford University ress, 1983.
- 16) Potter JD, McMichael AJ. Diet and cancer of the colon and rectum: a case-control study. J Natl Cancer Inst 1986;76:557-562.
- 17) Reddy BS, Narisawa T, Vukusich D, Weisburger JH, Wynder EL. Effect of quality and quantity of dietary fat and dymethylhydrazione in colon carcinogenesis in rats. Proc Soc Exp Med 1976; 151:237-243.
- 18) Broitman SA, Vitale JJ, Vavrousek-Jakuba E, Gottlieb LS. Polyunsaturated fat, cholesterol and large bowel tumorigenesis. Cancer 1977; 40:2455-2461.
- 19) Kinsella JE, Lokesh B, Broughton S. Dietary polyunsaturated fatty acids: potential effects on the modulation of inflammatory and immune cells: an overview. Nutr 1990; 6:24-44.
- 20) Yamamura Y, Sakurai M, Ogura T, Azuma I. Adjuvant immunomotherapy of lung cancer with BCG cell wall skeleton (BCG- CWS). Cancer 1979; 43:1314-1319.
- 21) Solis Pereyra B, Falcoff R, Falcoff E, Lemonnier D. Interferon induction by Lactobacillus bulgaricus and Streptococcus thermophilus in mice. Eur Cytokine Net 1991; 2:299-303.
- 22) Kishi A, Uno K, Matsubara Y, Okuda C, Kishida T. Effect of the oral administration of Lactobacillus Brevis Subsp. Coagulans on Interferon-o producing capacity in humans. J Am Coll Nutr 1996; 15:408-412.
- 23) Perdigon G, de Macias EN, Alvarez S, Oliver G, Pesce de Ruiz Holgado AA. Enhancement of immune response in mice fed with Streptococcus thermophilus and Lactobacillus acidophilus. J Dairy Sci 1987; 70:919-926.
- 24) Perdigon G, de Macias EN, Alvarez S, Oliver G, Pesce de Ruiz Holgado AA. Effect of perorally administered lactobacilli on macrophage activation in mice. Infect Immun 1986; 53:404-410.
- 25) Sugiura H, Maeno H, Ueya E, Inaba R, Iwata H, Nishida H. Effects of ingestion of "Bon-Narine" on immune functions in mice. Jpn J Hyg 1994; 49:914-923.
- 26) Kaila M, Isolauri E, Soppi E, Virtanen E, Laine S, Arvilommi H. Enhancement of the circulating antibody secreting cell response in human diarrhea by a human lactobacillus strain. Pediatr Res 1992; 32:141-144.

- 27) Akeda H, Mitsuyama M, Tatsukawa K, Nomoto K, Takeya K. The synergistic contribution of macrophages and antibody to protection against Salmonella typhimurium during early phase of infection. J Gen Microbiol 1981; 123:209-214.
- 28) Bloksma N, De Heer E, Van Dijk H, Willer JM. Adjuvanticity of lactobacilli. I. Differential effects of viable and killed bacteria. Clin Exp Immunol 1979; 37:367-375.
- 29) Popova P, Guencheva G, Davidkova G, Bogdanov A, Pacelli E, Opalchenova G, Kutzarova T, Koychev C. Stimulating effect of Deodan (an oral preparation from Lactobacillus bulgaricus "LB51") on monocytes/macrophages and host resistance to experimental infections. Int J Immunol 1993; 15:25-37.
- 30) Ohashi T, Yoshida A, Minamishima Y. Host-mediated antiviral activity of Lactobacillus casei against cytomegalovirus infection in mice. Biotherapy 1988; 1:27-39.
- 31) Miake S, Nomoto K, Yokokura T, Yoshidai Y, Mutai M, Nomoto K. Protective effect of Lactobacillus casei on Pseuomonas aeruginosa infection in mice. Infect Immun 1985; 48:480-485.